

SÉRIE A, N° 4129
N° D'ORDRE : 4980

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Janine BRETON-GORIUS

Première thèse. — ETUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE DES CELLULES
CHLORAGOGÈNES D' « ARENICOLA MARINA » L. LEUR RÔLE DANS LA SYN-
THÈSE DE L'HÉMOGLOBINE.

Deuxième thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 17 juin 1963 devant la Commission d'examen.

MM. GRASSÉ	<i>Président.</i>
THOMAS	} <i>Examineurs.</i>
COUTEAUX	

PARIS

MASSON & C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120

1963

SÉRIE A, N° 4129

N° D'ORDRE : 4980

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Janine BRETON-GORIUS

Première thèse. — ETUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE DES CELLULES
CHLORAGOGÈNES D' « ARENICOLA MARINA » L. LEUR RÔLE DANS LA SYN-
THÈSE DE L'HÉMOGLOBINE.

Deuxième thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 17 juin 1963 devant la Commission d'examen.

MM. GRASSÉ	<i>Président.</i>
THOMAS	} <i>Examineurs.</i>
COUTEAUX	

PARIS

MASSON & C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120

1963



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen M. ZAMANSKY.

PROFESSEURS

G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	GUINIER	T Phys. des solides (Orsay).
PRENANT	T Anat. et Histol. comp.	JOST ... N.	T Physiologie comparée.
GRASSÉ	T Evol. des êtres organisés.	FORTET	T Calcul des probabilités et physique mathémat.
PRÉVOST	T Chimie organique.	SCHWARTZ	T Calc. diff. et intégr.
WYART	T Minéralogie et cristall.	CHOUARD	T Physiologie végétale.
TEISSIER	T Zoologie.	MALAVARD	T Aviation (Tech. aéro- nautique).
MANGENOT	T Biologie végét. (Orsay).	BRELOT	T Calcul différentiel et in- tégral.
P. AUGER	T Physique quant. et relat.	NORMANT	T Synthèse organ. génér.
MONNIER	T Physiologie générale.	BENARD	T Chimie minérale.
PIVETEAU	T Paléontologie.	BUVAT	T Botanique (E. N. S.).
ROCARD	T Physique (E. N. S.).	DUGUÉ	T Statistiques mathémat.
H. CARTAN	T Mathématiques (E. N. S.).	SOULAIRAC	T Psychophysiologie.
LAFFITTE	T Chimie générale.	ULRICH	T Physiologie végétale.
FAVARD	T Géométrie supérieure.	MARÉCHAL	T Optique théor. et appl.
COULOMB	T Physique du Globe.	KIRRMANN	T Théories chimiques.
M ^{lle} COUSIN	T Biol. anim. (S. P. C. N.).	CHADEFAUD	T Botanique.
CHRÉTIEN	T Chimie minérale.	M ^{lle} LE BRETON ..	T Physiol. de la nutr.
P. DRACH	T Zoologie.	SALEM	T Mathématiques générales.
KASTLER	T Physique (E. N. S.).	LELONG	T Applic. de l'analyse à la géométrie.
ÉPHRUSSI	T Génétique.	DEVILLERS	T Anat. et histol. comp.
RIVIÈRE	T Géol. (S.P.C.N.) et sédim.	EHRESMANN	T Topologie algébrique.
GAUTHÉRET	T Biologie végét. (P. C. B.).	FRANÇON	T Physique (S. P. C. N.).
R. LUCAS	T Recherches physiques.	GLANGEAUD	T Géogr. phys. et géol. dyn.
A. THOMAS	T Biologie cellulaire.	GODEMENT	T Mathématiques (M. P. C.).
ARNULF	T Optique appliquée.	PISOT	T Techniques mathémat. de la Physique.
M. MORAND	T Enseig. de physique.	E. ROCH	T Géologie.
SOLEILLET	T Physique (P. C. B.).	SCHATZMANN	T Astrophysique.
FORTIER	T Mécan. expér. des fluides.	TERMIER	T Paléontol. stratigraph.
DANJON	T Astronomie.	ZAMANSKY	T Mathémat. générales.
PETIT	T Biologie maritime.	LENNUIER	T Physique (M. G. P.).
QUENEY	T Météorologie et dyna- mique atmosphérique.	RIZET	T Génétique.
GALLIEN	T Embryologie.	ROUTHIER	T Géologie appliquée.
EICHORN	T Botanique.	M ^{me} TONNELAT ..	T Physique théorique.
DE CUGNAC	T Biol. végét. (S. P. C. N.).	DIXMIER	T Mathématiques (M. P. C.).
M ^{lle} CAUCHOIS	T Chimie physique.	SOUCHAY	T Chimie générale.
THELLIER	T Physique du Globe.	AIGRAIN	T Electrotechn. génér.
L'HÉRITIER	T Biologie gén. (Orsay).	BRUSSET	T Chimie systématique.
GRIVET	T Radio-Electricité (Orsay).	M. LÉVY	T Physique théorique des hautes énerg. (Orsay).
PONCIN	T Mécanique générale.	M ^{me} CHAIX	T Chimie biologique.
DUBREIL	T Arithmétique et théorie des nombres.	M ^{me} HUREL-PY ..	T Biol. végétale (P. C. B.).
QUELET	T Chimie organique.	PIAUX	T Chimie (M. P. C.).
CAGNIARD	T Géophysique appliquée.	BRUN	T Mécan. théor. des fluides.
CHAMPETIER	T Chimie macromolécul.	LEDERER	T Chimie biologique.
CUVILLIER	T Micropaléontologie.	M ^{me} DUBREIL	T Mathém. (Agrégation).
JUNG	T Pétrographie.	M ^{me} LELONG	T Mathématiques II (E. N. S.).
TRILLAT	T Microscopie et diffraction électronique.	BELLAIR	T Géologie (S. P. C. N.).
WIEMANN	T Chimie org. et structur.	COTTE	T Physique électricité.
JACQUINOT	T Spectroscopie et phy- sique céleste (Orsay).	J.-E. DUBOIS	T Chimie organique.
VASSY	T Physique de l'atmosph.	LAMOTTE	T Zoologie (E. N. S.).
DESTOUCHES	T Théories physiques.	A. MICHEL	T Chimie minér. (Orsay)
AMIEL	T Chimie générale.	OLMER	T Energétique générale.
HOCART	T Minéralogie et cristall.	ROUAULT	T Electricité (Orsay).
J.-P. MATHIEU	T Physique (Optique).	GAUTHIER	T Mécanique appliquée.
COUTEAUX	T Biologie anim. (P. C. B.).	BARCHIEWITZ	T Chimie physique.
MAY	T Zoologie (Orsay).	BROSSEL	T Chimie atomique.
CHOQUET	T Théor. des fonctions et topologie.	BUSER	T Physiologie comparée.
FELDMANN	T Biologie végétale marine.		

Professeurs (suite).

CAMUS	T Phys. végét. (B.M.P.V.).	D. CURIE	Physique (M. G. P.).
CASTAING	T Physique II. Thermod. (Orsay).	DURAND-DELGA	T Géologie.
CURIEN	T Minéral. et cristallogr.	FRÉON	T Chimie organ. (Orsay).
MOYSE	T Physiol. végét. (Orsay).	HELLER	T Physiologie végétale.
NOIROT	T Evol. des êtres organisés.	TORTRAT	T Calcul des probabilités.
PANNETIER	T Chimie générale.	CAILLEUX	Géologie (S. P. C. N.).
POSSOMPÈS	T Zoologie.	MAGNAN	T Physique (S. P. C. N.).
PULLMANN	T Chimie quantique.	DAUDEL	T Mécan. ondul. appl. à la chimie théor. et à la phys. nucl.
TEILLAC	T Physique nucl. et radio-activité.	Mlle FOURCROY ...	Biol. végét. (S. P. C. N.).
TONNELAT	T Biol. physico-chimique.	Mme CHOQUET- BRUHAT	T Méc. analytique et Méc. céleste.
VILLE	T Econométrie.	Mlle VEIL	Physiologie générale.
WILLEMART	T Chimie (P. C. B.).	LWOFF	T Microbiologie.
DODÉ	T Chimie (Orsay).	SIESTRUNCK	T Mécan. phys. et expér.
FREYMANN	T Recherches physiques.	LACOMBE	T Métal. des métaux Nucl.
GUINOCHE	T Biologie vég. (S. P. C. N.) (Orsay).	BROCHARD	T Physique P.C.B. (Orsay).
ROLLET	T Chimie minérale.	CABANNES	T Mécanique générale.
Mlle JOSIEN	T Chimie (S. P. C. N.).	LESIEUR	T Mathématiques I (Orsay).
CHEVALLEY	T Géomér. algèbr. et théor. des groupes.	MAZET	T Mécan. génér. (Orsay).
ARNOULT	T Electronique (Orsay).	CAIRE	Géographie physique et Géol. dynamique.
CHAPELLE	T Physique (Orsay).	COMOLET	T Mécanique des fluides.
DELANGE	T Mathématiques (Orsay).	CORABOEUF	Physiol. anim. (Orsay).
DENY	T Mathém. génér. (Orsay).	DELLOUE	Physique de l'exosphère.
GERMAIN	T Mécan. théor. des fluides.	GORENFIOT	Botanique II (Orsay).
G. LUCAS	T Géologie.	HOUILLOIN	Biol. anim. (P. C. B.).
ALLARD	T Chimie physique.	JULLIEN J.	Chimie (P. C. B.) (Orsay).
BERTHELOT	T Phys. des partic. Fond.	MALGRANGE	T Tech. math. de la phys. (Orsay).
BRICARD	T Météorol. et physique de l'atmosphère.	OLIVIER	Anthropologie.
Mme ALBE-FESSARD	T Psychophysiologie.	NOZERAN	T Botanique II (Orsay).
FRIEDEL	T Physique des solides (Orsay).	BLANC-LAPIERRE	T Phys. (E. N. S.) (Orsay).
M. JULIA	T Etudes des moléculaires naturelles complexes.	CHEVAUGEON	T Botanique (Orsay).
LENDER	T Biol. animale (S. P. C. N.) (Orsay).	KAHANE	T Mathématiques (Orsay).
MAGAT	T Physico-chim. des radio-éléments.	SAMUEL	T Mathém. (E.N.S. féminin).
Mlle QUINTIN	T Electrochimie.	KOURGANOFF	T Astronomie (Orsay).
MONOD	T Chimie du métabolisme.	THIRY	T Mécanique céleste.
BENOIT	T Physiol. anim. (Orsay).	ABELES	Physique (S. P. S. C. N.).
DE POSSEL	T Analyse numérique.	AMAT	Physique (P. C. B.).
CHARLOT	T Chimie analytique.	AUBOIN	Géologie.
LÉMÉE	T Physiol. vég. (B.M.P.V.) (Orsay).	Mme BENOIT- GUEUTAL	Phys. nucl. et radio-act.
GUÉRIN	T Chimie (M. P. C.) (Orsay).	BOUGIS	Biologie marine (Ville-franche-sur-mer).
M. CHATELET	T Chimie (P. C. B.).	BRUHAT	T Mathématiques (M. P. C.).
JEAN	T Phys. nucl. (Orsay).	BRUNN	T Géol. histor. (Orsay).
MATTLER	T Physique (S. P. C. N.).	CHABBAL	Phys. (M. G. P.) (Orsay).
BERGERARD	T Zoologie (Orsay).	DEHEUVELS	T Mathémat. Propé. (Orsay).
BERTIN	T Electronique (Orsay).	D'ESPAGNAT	Physique théor. (Orsay).
BOUSSIÈRES	Chimie des radio-élem. (Orsay).	FURON	Géologie (S. P. C. N.).
Mme COUTURE ...	T Thermodynamique et mec. physique.	Mme GANS	T Génétique.
ELLENBERGER	T Géol. des grandes régions du globe.	GENÈVES	Biologie végét. (P. C. B.).
FRANC	T Biol. animale (P. C. B.).	GUILBERT	Phys. (C. U. S. Orléans).
SCHNELL	Botan. tropicale (Orsay).	HUPE	Pétrographie.
STOLKOWSKI	T Physiologie végétale.	HOLLANDE	T Biologie générale.
ACHER	Chimie biol. (Orsay).	LIONS	T Analyse numérique.
BAUDOIN	Biol. anim. (P. C. B.).	MAITTE	Chimie (P. C. B.).
BEAUMONT	Biol. anim. (S. P. C. N.).	MÉYER	Physique propédeutique.
BLAMONT	T Géophys., Ionosphère.	NICOLAS	Géologie appliquée.
BOURREAU	Botanique.	PANIGEL	Biologie générale.
		RAVIER	Pétrographie.
		ROSEAU	T Mécan. théor. des fluides.
		ROUBINE	Electronique.
		SILBER	T Chimie P. C. B.
		UEBERSFELD	T Electronique.
		YVON	T Théories physiques.

Secrétaire général R. POUILLAIN.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548801_0033

A la mémoire de mon père.

A ma mère.

A mon mari.

A mes enfants.

A ma sœur.

A toute ma famille.

A Monsieur le Professeur P. P. GRASSÉ

Membre de l'Institut

qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de ma profonde gratitude, tant pour les enseignements reçus de lui, que pour la grande bienveillance qu'il m'a toujours accordée.

A mon Maître, Monsieur le Docteur M. BESSIS

Professeur Agrégé

à qui je dois tant : il a su me donner à l'origine le goût de la recherche, je lui suis profondément reconnaissante d'avoir su m'encourager à poursuivre des tâches qui me paraissaient parfois insurmontables.

Aux heures difficiles, j'ai trouvé en lui un appui sûr.

Il m'a inspiré le sujet de cette thèse, m'a conseillé et guidé dans son élaboration.

Qu'il veuille bien accepter, avec toute mon admiration, mes plus vifs remerciements et le témoignage de mon respectueux dévouement.

A Monsieur le Professeur J. ROCHE

Recteur de l'Université de Paris

Membre de l'Académie des Sciences

Cette thèse fait partie d'un ensemble de travaux entrepris sous sa haute direction depuis plusieurs années.

Je le prie de trouver ici l'expression de ma respectueuse gratitude pour la bienveillance qu'il m'a toujours témoignée.

A Monsieur le Professeur A. POLICARD

Membre de l'Académie des Sciences

dont les conseils m'ont été précieux au cours de ce travail.

Je le prie d'accepter l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

A mes collègues et amis du Service de Cytologie :

Mademoiselle STRALIN et Madame BARAT

qui m'ont apporté un si précieux concours et
dont la collaboration m'a permis de mener à
bien ce travail.

Mesdames NOAL, COTONI, FAGES, BARON, Monsieur BURTE,

qui ont mis à ma disposition leurs services
compétents et dévoués.

A tous, j'adresse mes très sincères remerciements.

ÉTUDE AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE DES CELLULES CHLORAGOGÈNES D'ARENICOLA MARINA L.

LEUR RÔLE DANS LA SYNTHÈSE DE L'HÉMOGLOBINE

Par Janine BRETON-GORIUS

SOMMAIRE

INTRODUCTION	213
Chapitre Premier. — Historique	215
A. — L'HÉMOGLOBINE DES ANNÉLIDES.....	215
B. — LES CELLULES CHLORAGOGÈNES	217
1° Définition, localisation et étude histologique.....	217
2° Etude histochimique et biochimique.....	219
3° Fonctions, évolution et homologie dans les autres embranchements.	222
Chapitre II. — Matériel et techniques	225
A. — FIXATIONS ET COLORATIONS DU TISSU CHLORAGOGÈNE POUR EXAMEN AU MICROSCOPE OPTIQUE	225
B. — FIXATIONS ET COLORATIONS DU TISSU CHLORAGOGÈNE POUR EXAMEN AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE	226
C. — FIXATIONS ET COLORATION NÉGATIVE DU SANG D'ARÉNICOLE.....	227
Chapitre III. — Etude histologique du tissu chloragogène	228
A. — DISPOSITION ANATOMIQUE DES CELLULES CHLORAGOGÈNES.....	228
Problème du corps cardiaque de l'Arénicole.....	228
B. — ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES CELLULES CHLORAGOGÈNES	229
1° Noyau et nucléoles.....	230
2° Mitochondries	233
3° Ergastoplasme	234
4° Centrosome : centrioles et appareil de Golgi.....	235
5° Chloragosomes	237

6° <i>Inclusions graisseuses</i>	239
7° <i>Glycogène</i>	240
8° <i>Ferritine</i>	241
9° <i>Hémoglobine</i>	242
C. — LA CELLULE BASOPHILE.....	247
D. — LES CONTACTS CELLULE CHLORAGOGÈNE-VAISSEAU.....	249
 Chapitre IV. — L'appareil de Golgi et son rôle dans la sécrétion de l'hémoglobine	250
A. — DIFFÉRENTS STADES D'ÉVOLUTION DE L'APPAREIL DE GOLGI.....	250
B. — DISCUSSION SUR SON RÔLE HÉMOGLOBINO-SÉCRÉTEUR.....	254
CONCLUSIONS	258
BIBLIOGRAPHIE	260
LÉGENDES DES PLANCHES	267

INTRODUCTION

Chez les Vertébrés, l'hémoglobine est toujours localisée dans des hématies, circulant à l'intérieur d'un système circulatoire clos, disposé de telle façon que l'oxyhémoglobine formée dans les poumons cède son oxygène au niveau des différents tissus de l'organisme. Chez les Invertébrés, et en particulier chez les Annélides, l'hémoglobine n'est pas toujours contenue dans des hématies; elle peut, comme c'est le cas chez l'Arénicole, être dissoute dans le sang.

Le poids moléculaire de cette hémoglobine (mesuré par ultra-centrifugation (SVEDBERG et coll., 1933) est alors très élevé, environ 2 750 000. La grosse taille de ces molécules a permis leur étude morphologique au microscope électronique (ROCHE et coll., 1960).

Des observations préliminaires ont montré que les cellules chloragènes étaient, à certain stade de leur évolution, remplies de cristaux d'hémoglobine, aisément identifiables au microscope électronique (ROCHE et coll., 1961). Il nous a donc paru intéressant d'étudier le rôle de ces cellules dans la sécrétion de cette hémoprotéine.

Nous avons étudié l'ultrastructure des cellules chloragènes dans le but principal d'examiner les arguments en faveur de leur rôle dans la sécrétion de l'hémoglobine. Au cours de ce travail, nous avons pu observer différentes étapes d'évolution dans l'appareil de Golgi, qui évoquent fortement une fonction hémoglobino-sécrétoire ou, tout au moins, une participation importante de cet organite au mécanisme de synthèse de l'hémoglobine.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

A. — L'HÉMOGLOBINE DES ANNÉLIDES

On doit à LANKESTER (1873) la démonstration par spectroscopie de la présence d'hémoglobine dans le sang et les tissus de certains Vers. Ces constatations furent confirmées par KRUKENBERG (1882) chez l'Arénicole.

SORBY (1876) indiqua que les hémoglobines sanguines des Invertébrés contenaient la même hématine que celle des Mammifères (proto-hématine).

PEYREGA (1913) nota l'impossibilité d'obtenir, au spectrophotomètre, la bande rouge de la méthémoglobine acide, avec le sang d'Arénicole.

VLÈS (1923) montra, par voie spectrophotométrique, les différences de leurs constituants protéiques.

BARCROFF (1924) rapporte que le pigment du sang d'Arénicole n'a pas la même courbe de dissociation que l'hémoglobine humaine; il présente des affinités plus grandes pour l'oxygène et plus petites pour l'oxyde de carbone.

SVEDBERG et coll. (1933-1934) désignent les hémoglobines des Invertébrés sous le nom d'érythrocrurine (terme déjà proposé par LANKESTER).

Les chlorocrurines sont des chromoprotéides porphyriques colorées en vert. Comme les hémoglobines, elles contiennent du fer à l'état divalent. Elles diffèrent des hémoglobines par un détail de structure de leur hème (FISCHER et coll., 1940). La couleur verte du pigment apparaît en couche mince ou en solution diluée; en couche épaisse ou en solution concentrée, la chlorocrurine est rouge.

ROCHE et coll. (1934) et ROCHE (1936), déterminant la composition en acides aminés des globines des Invertébrés, ont montré l'existence d'une teneur élevée en arginine (10,04 % chez l'Arénicole, au lieu de 3,57 % chez le Cheval) et d'une pauvreté en lysine (1,85 % au lieu de 8,31 % chez le Cheval) et en histidine (4,03 % au lieu de 8,13 %). Le point iso-électrique varie de 5,2 à 4,7 pour les hémoglobines d'Invertébrés (4,5 % pour le Spirographe, 4,75 pour *Arenicola marina*), il s'étend de 6,8 à 7,2 chez les Vertébrés.

Le poids moléculaire de l'hémoglobine de l'Arénicole, déterminé par

ultra-centrifugation (SVEDBERG, 1933) est de 2 750 000, alors que le poids moléculaire des hémoglobines intraglobulaires est de 68 000. Par osmométrie, ROCHE et coll. (1937) trouvent une valeur de 360 000, chiffre s'écartant de celui obtenu par ultra-centrifugation. Cette différence est expliquée par le fait qu'il s'agit d'un haut polymère protéique pouvant se scinder en sous-unités par différentes actions, tant *in vitro* qu'*in vivo*. Cette diversité de tailles moléculaires pourrait intervenir dans l'équilibre entre le sang et les tissus (ROCHE, 1936). En effet, chez les animaux à pigment respiratoire plasmatique, le chromoprotéide peut participer directement aux équilibres osmotiques. FLORKIN (1934) a montré que seuls des pigments respiratoires à grosses molécules pouvaient exister en quantité suffisante pour assurer l'oxygénation sans intervenir dans les phénomènes d'osmose au niveau des vaisseaux capillaires.

Les pigments sanguins dissous peuvent donc, par leur dissociation, jouer le rôle dévolu aux protéines plasmatiques des Vertébrés.

En 1960, ROCHE et coll., examinant au microscope électronique du sang d'*Arenicola marina* L. par la technique de BRENNER et HORNE, ont vu des molécules d'hémoglobine constituées de six éléments disposés en un hexagone, dont le diamètre atteint environ 230 Å. Lorsque la molécule est vue de face, elle présente un aspect en rosette hexagonale; de profil, elle se présente comme deux bâtonnets associés évoquant la forme de la lettre H ou X (pl. X, fig. 1; pl. XII, fig. 1).

Cette structure a été retrouvée chez d'autres Annélides Polychètes (*Nereis diversicolor*, *Lanice conchilega*), un Oligochète terrestre (*Lumbricus sp.*) et un Hirudiné (*Hirudo medicinalis*) (ROCHE et coll., 1960).

D'autre part, l'hémoglobine cristallisée fixée par le tétr oxyde d'osmium, en coupe au microscope électronique, montre une structure périodique, dont la période varie de 200 Å environ à des tailles nettement plus petites.

**
**

Il existe peu de travaux sur l'origine cellulaire de l'hémoglobine dissoute dans le plasma. Il n'y a rien en ce qui concerne les Arenicolidae. Pour quelques familles de Polychètes, BLOCH-RAPHAËL (1939) a montré, dans un travail important au microscope optique et avec des techniques cytochimiques, la localisation de l'hémoglobine tissulaire. Ses conclusions sont les suivantes :

1° La localisation des tissus contenant de l'hémoglobine varie suivant les espèces (manchon conjonctif autour du système nerveux, trompe, gaine pharyngienne, glandes parapodiales, pygidium).

2° L'hémoglobine est à tout moment formée et détruite.

3° Les lieux de formation et lieux de destruction sont distincts ou confondus suivant les familles.

4° La formation et la destruction sont simultanées ou successives suivant les cas.

En 1961, ROCHE et coll., ayant caractérisé la molécule d'hémoglobine

d'Arénicole au microscope électronique, ont retrouvé ces mêmes molécules à l'intérieur de vacuoles, dans les cellules chloragogènes de ce Ver. Ils ont avancé l'hypothèse du rôle hémoglobino-formateur des cellules chloragogènes. La présence de molécules de ferritine isolées ou en amas dans le cytoplasme des cellules chloragogènes rappelle le cas des érythroblastes des Mammifères (BESSIS et BRETON-GORIUS, 1959) et fournit un argument de plus en faveur de cette hypothèse.

B. — LES CELLULES CHLORAGOGÈNES

1° Définition, localisation et étude histologique.

Ce sont des cellules péritonéales qui se développent sur la paroi du tube digestif ou de certains vaisseaux ramifiés des Annélides. Elles doivent leur nom à des granulations réfringentes colorées en jaune verdâtre. Le nom de chloragogène leur fut donné par MORREN en 1826. Cet auteur ne désignait par là que la couche des cellules jaune verdâtre qui entoure comme un conduit la portion œsophagienne du vaisseau dorsal et quelques-unes de ses branches (« *ductus viridis flavescens* »). Ces cellules furent ensuite décrites avec beaucoup de détail par CLAPARÈDE (1873), chez *Myxicola*, *Spirographis* et *Protula*, et par BRUNOTTE (1888) chez *Branchiomma*.

On trouve en général ces cellules autour des vaisseaux ventraux, en couche unique. Chez *Arenicola marina* L., la couche chloragogène revêt le vaisseau ventral et ses petites branches cœcales ramifiées flottent librement dans le cœlome.

GAMBLE et ASHWORTH (1898) les ont parfaitement décrites. Le tissu chloragogène est vu en premier lieu sur le vaisseau ventral, il débute au niveau de la huitième paire de soies. GAMBLE a, le premier, remarqué la variation quantitative de ce tissu selon l'âge de l'animal. Sa couleur varie du brun clair au noir. Chez les animaux âgés, ce tissu noir longe non seulement les vaisseaux déjà nommés, mais ces « hairy looking » courent le long des fins vaisseaux des parois du corps. Il est formé de cellules de 20 microns, alignées en manchon autour des vaisseaux et remplies de granules jaunes ou noirs donnant au tissu sa couleur.

CUÉNOT, en 1891, montre que cette couche chloragogène existe chez tous les Arénicoliens, Sabelliens, Serpuliens. MEYER (1887) en donne des figures chez les Cirratulien.

Localisation et histologie chez les Oligochètes. — Chez *Lumbricus terrestris*, « quand on ouvre la paroi du corps, on est frappé par la couleur jaune de l'intestin »; ainsi s'exprime CUÉNOT en 1891. Cela

tient à la présence de grosses cellules qui recouvrent non seulement l'intestin, sur tout son pourtour, mais encore les vaisseaux adjacents (vaisseau dorsal et branches latérales) pour ne cesser qu'à proximité de l'anus.

Chez les Oligochètes inférieurs, selon ROSA (1902), les chloragocytes ont une base plate qui forme une couche continue de revêtement. Les fibres qui s'étendent sous les chloragocytes se logent dans les rainures creusées dans leur base.

Quand les fibres musculaires sont très développées comme chez le *Lombric*, elles interrompent la continuité de la couche chloragogène et s'insinuent entre les bases des chloragocytes qui deviennent effilés, afin de pouvoir conserver le contact avec les parois des vaisseaux du réseau intestinal.

Chez le *Lombric*, ces cellules atteignent 40 microns de long, elles sont rattachées à la paroi du corps par un long pédicule qui supporte la portion élargie où se trouve le noyau. Leur cytoplasme est bourré de gros granules sphériques réfringents d'un beau jaune. Ces granules sont si abondants qu'ils cachent parfois le noyau (CUÉNOT, 1891).

SEMAL VAN GANSEN (1956), étudiant ces cellules chez *Eisenia fætida* et *Allophora*, donne des dessins montrant une forme en massue; chez *Allophora*, le nombre des chloragosomes est encore supérieur à celui trouvé chez *Eisenia*.

ROSA (1902) résume ainsi la localisation du tissu chloragogène chez les Oligochètes :

- a) dans l'intestin, dans la partie où se trouve un réseau vasculaire absorbant;
- b) sur les vaisseaux qui charrient le sang de ce réseau vers le vaisseau dorsal;
- c) sur le vaisseau dorsal et ses cæcums;
- d) sur une portion initiale des vaisseaux qui reçoivent leur sang directement du vaisseau dorsal.

Le corps cardiaque. — Il y a une identité presque complète de structure histologique des éléments du corps cardiaque, découvert en 1883 par SALENSKY, et des cellules chloragogènes. C'est un organe flottant dans la lumière du vaisseau dorsal; il se présente comme un bâtonnet souvent de couleur sombre, formé de cellules renfermant fréquemment de fins granules colorés. Le corps cardiaque existe dans un grand nombre de familles de Polychètes.

Un organe analogue se trouve chez les Oligochètes où il a été décrit par MICHAELSEN (1886). DE BOCK (1900) le signale chez *Lumbriculus* et trois autres espèces d'Oligochètes. ROMIEU (1923) en donne une étude approfondie dont nous reparlerons plus loin à propos des chloragosomes.

Tous les auteurs cités pensent que les cellules chloragogènes sont d'origine mésodermique. C'est la paroi interne de la cavité générale

qui se remplit de granules réfringents autour de certains vaisseaux.

SEMAL VAN GANSEN (1956) confirme l'origine péritonéale des cellules chloragogènes chez *Eisenia foetida* : chez les nouveau-nés de cette espèce, ce sont des cellules splanchnopleurales typiques qui deviennent des cellules chloragogènes.

2° Etude histochimique et biochimique.

1° *Chloragosomes*. — OLIGOCHÈTES. — Selon les auteurs et le matériel utilisé, les résultats sont contradictoires (tableau I).

Les chloragosomes du Lombric ont 3 microns environ de diamètre pour les plus gros. VEJDOVSKY (1884), sans parler de leur composition chimique, les déclare inattaquables par l'alcool, l'acide acétique, l'acide osmique et la potasse.

TABLEAU I

CARACTÈRES DE SOLUBILITÉ DES CHLORAGOSOMES SELON	ETHER	ALCOOL	ACIDE ACÉ- TIQUE	HCl FROID CONCENTRÉ	HCl 5 % CHAUD	POTASSE 5 %	NH ₄ OH 2 % FROID	NH ₄ OH CONCENTRÉ	2 % NA OH
VEJDOVSKY	—	—	—	—	—	—	—	—	—
KUKENTHAL (<i>Tubifex</i>)....	—	—	—	—	—	—	—	—	—
WILLEM et MINNE (lombric = guanine) ...	—	—	—	—	+	+	—	—	—
BAHL (néphridies, lombric hémochromogène)	—	—	—	—	—	—	+	—	—
SEMAL VAN GANSEN (<i>Eise- nia foetida</i>) (purine) ...	—	—	—	—	+	—	+	—	—
WILLEM et MINNE (Aréni- cole, urate acide de sodium)	—	—	—	—	—	+	+	—	—
ROMIEU (corps cardiaque <i>Audouinia</i> , urate acide de sodium)	—	—	—	—	+	+	+	—	—
O. HUYE (hématie urechis, Hématine)	—	—	+	—	—	+	—	—	—

EISIG (1887) dit qu'ils sont constitués de guanine. DE BOCK (1900) parle de nature chitinoïde. En 1900, WILLEM et MINNE effectuent une étude histochimique à partir des broyats totaux de tubes digestifs de Vers. Ils concluent que les grains sont constitués de guanine et d'une substance jaune de nature inconnue. Ces grains sont insolubles dans NH₃ concentrée, mais solubles dans la potasse à 5 % et HCl dilué à chaud, mais PESCHEN (1939) ne trouve que des traces de guanine et conteste les résultats de WILLEM et MINNE.

BAHL (1947) démontre que les granules réfringents jaune-brun des néphridies donnent un spectre d'hémochromogène (le pigment dissous dans la pyridine montre une bande alpha à 558 Å et une bande bêta à 527 Å, caractéristiques de l'hémochromogène).

WILLEM et MINNE avaient trouvé que les chloragosomes analogues à ces granules étaient constitués de guanine. Ces granules sont solubles dans les alcalis dilués mais non dans HCl fort. Ils ne donnent jamais de réaction positive à la murexide. Ils ne contiennent donc ni *acide urique*, ni *urates*.

POUR SEMAL VAN GANSEN, en 1957, les chloragosomes des Lombriciens ont une structure complexe. Ce sont de véritables calculs formés :

1° D'une purine (hétéroxanthine trouvée par spectrophotométrie après chromatographie).

2° D'un chromolipide ou chloragolipoïde, qui correspond à la composante jaune de WILLEM et MINNE.

3° D'une fraction minime constituée de grains de muscovite agglomérés.

POLYCHÈTES : Arénicole. Pour WILLEM (1899), ces chloragosomes sembleraient, au premier abord, être constitués de guanine comme chez le Lombric, mais l'insolubilité dans HCl démontre le contraire. Pour cet auteur, il s'agit de corpuscules d'urate acide de sodium, la coloration brune étant due à une substance qui imprègne les grains.

La variation de la coloration du tissu chloragogène a été depuis longtemps observée, de même que celle des téguments externes de l'animal. DE SAINT-JOSEPH (1894) signale la variation de la couleur des téguments et l'attribue au fait que le sable est plus ou moins mêlé à la vase. FAUVEL (1899), ayant remarqué cette variation, étudie le développement de la pigmentation noire et remarque que, chez les jeunes, la coloration gagne peu à peu, des deux extrémités vers le milieu du corps de l'animal. Il pense que le pigment noir est une mélanine se formant à partir du lipochrome. En effet, une solution de lipochrome jaune noircit quand on y ajoute un acide.

En 1945, LIGNAC fait les mêmes observations. Il appelle ce pigment l'arénicochrome et démontre que l'oxydation le transforme en pigment noir. Il pense que l'arénicochrome est un pigment autoxydable en milieu acide, oxydé par l'oxygène en pigment mélanique. Ce pigment agirait comme pigment quinoïde.

Fox et coll. (1955) font des remarques analogues; étudiant la tolérance à l'oxygène de jeunes Arénicoles, ils observent un curieux détail: dans de l'eau oxygénée, à 4 %, les deux extrémités du Ver sont jaune vif, tandis que, à 21 %, il devient rouge-brun, à 100 % noir-brun.

2° *Grains verts du corps cardiaque.* — ROMIEU (1923), étudiant le corps cardiaque d'*Audouinia tentaculata*, montre que les granulations vertes de ces cellules sont insolubles dans HCl même concentré à froid; elles ne se dissolvent qu'à chaud; elles sont insolubles dans l'alcool, le

chloroforme; solubles dans la potasse caustique et dans NH_3 , même en solution peu concentrée. ROMIEU en conclut qu'il s'agit de concrétions d'urate acide de soude. Ces grains verts possèdent une écorce lipoïde. De plus, la benzidine donne une réaction positive.

EISIG (1887) pensait que ce pigment devait être considéré comme un dérivé de l'hémoglobine, car des granulations vertes sont retrouvées également dans les globules rouges des Capitellidiens, où ils présentent les mêmes réactions cytochimiques qui rapprochent ce corps de l'hématine. OHUYE (1937) pense également qu'il s'agit d'hématine dans le cas d'*Urechis caupo*.

WILLEM et MINNE (1900), retrouvant cette substance colorée dans les vaisseaux et le sang (cellules épidermiques, épithélium digestif des Térébelles, muscles, leucocytes de cœlome, etc.), pensent qu'elle n'a aucun lien de parenté avec l'hémoglobine; ROMIEU (1923) suppose qu'il s'agit plutôt d'un pigment uratique du groupe de l'urochrome, car, pour lui, elle n'a ni les caractères de l'hématine, ni ceux de la biliverdine.

3° **Fer.** — Sa présence est indiquée, par SCHNEIDER (1896), dans le corps cardiaque de la Pectinaire. ROMIEU (1923) en retrouve également, par la réaction au bleu de Prusse, dans toutes les cellules constituant le corps cardiaque. Pour lui, ce fer représente un produit de destruction de l'hémoglobine.

4° **Autres inclusions cytoplasmiques des cellules chloragogènes.** — GLYCOGÈNE. — CUÉNOT (1898) montre la présence de glycogène par les tests à l'iode. HERTLING (1923) le confirme par la réaction au Carmin de Best. SEMAL VAN GANSEN retrouve, en 1956, cette réaction positive au glycogène.

Après 5 semaines de jeûne sur papier filtre imprégné d'eau, il ne retrouve pas de différences histochimiques avec des Vers bien nourris. Des coupes montrent l'absence de glycogène dans ce cas, dans les cellules intestinales. Des dosages prouvent que la teneur de l'intestin en glycogène baisse de 50 % en un mois de jeûne, les cellules chloragogènes fonctionnant comme un tissu de réserve en glycogène.

PICTON (1898) retrouve le glycogène dans les chloragocytes, mais pas dans le corps cardiaque.

GRAISSES. — SCHNEIDER (1896) observe dans ces cellules des globules qui noircissent à l'acide osmique. ROSA (1902) emploie le Soudan III pour caractériser les globules lipidiques. ROMIEU (1923) rencontre de la graisse dans le corps cardiaque et les chloragocytes de l'Arénicole. Chez les Enchytræides, il constate l'absorption de la graisse dans les cellules intestinales et assiste à son passage dans les chloragocytes. Enfin, LIEBMANN (1942) observe que les inclusions graisseuses dans les cellules chloragogènes sont d'autant plus positives pour les colorants des graisses qu'elles sont plus apicales.

SEMAL VAN GANSEN (1956) retrouve les enclaves graisseuses de LIEB-MANN et une fraction lipidique constituant une partie des chloragosomes; la richesse en lipides des chloragocytes est inversement proportionnelle à celle des cellules intestinales. Les enclaves disparaissent au cours du jeûne, alors que le chromolipide fixé sur les chloragosomes se maintient.

3° *Fonctions, évolution et homologie du tissu chloragogène dans les autres embranchements.*

Les fonctions de ce tissu ont été discutées, autant que la nature des chloragosomes, depuis sa découverte en 1826. Plusieurs courants d'idées ont été successivement en faveur :

1° *Rôle glandulaire.* — Un certain nombre d'auteurs, comme VEJDovsky (1879), PERRIER (1872), LANKESTER (1870), font jouer aux cellules chloragogènes, déversant leur contenu dans l'intestin, le rôle d'une glande digestive. Ce point de vue est rapidement abandonné, car il n'y a pas de connexion directe entre ces cellules et le tractus digestif. Pour CLAPARÈDE (1869), VOGT et YUNG (1886), le rôle de ces cellules est de prélever certaines parties nutritives du sang pour les déverser dans le liquide cœlomique périveriscéral.

2° *Rôle excréteur.* — VEJDovsky (1884) ne considère plus les cellules chloragogènes comme des glandes digestives, mais il en fait des cellules péritonéales en rapport avec l'excrétion. KÜENTHAL (1885), se fondant sur la grande résistance des chloragosomes aux acides et aux alcalis, les considère comme des *excreta*, venant s'accumuler autour de l'intestin. EISIG (1887) se rallie à cette opinion.

En 1889, KOWALEVSKI, injectant des colorants vitaux à des Vers de terre, constate que les cellules chloragogènes sont capables d'athrocytose. BEDDARD (1891), GROBBEN (1887), CRÉNOT (1898), WILLEM et MINNE (1900), puis VON BUDDENBROCK (1928), se rallient à l'opinion que ces cellules doivent être considérées comme des reins d'accumulation.

Le corps cardiaque, qui a été assimilé par la majorité des auteurs à un chloragogène intravasculaire (PICTON, CLAPARÈDE, EISIG, MICHAELSEN, WILLEM et MINNE, ROMIEU), aurait la même fonction, à savoir qu'il se comporte comme un rein d'accumulation vis-à-vis des déchets retirés du sang.

STEPHENSON (1930) admet également la nature purement excrétrice de ces cellules. BAHL (1947) se rallie à cette idée à la suite des travaux de HEIDERMANN (1937) montrant qu'une tranche d'intestin avec son tissu chloragogène est capable de transformer les peptones en urée. Le tissu chloragogène est appelé l'organe central du métabolisme de l'urée.

COHEN et LEWIS (1949) sont aussi de cet avis.

3° Rôle nutritif. — ROSA (1902), LIEBMANN (1942), FREUDWEILER (1905), ISSEL (1906) et BELL (1936) attribuent une fonction nutritive à ce tissu. Pour SEMAL VAN GANSEN (1956), ces cellules servent de tissu de réserve et de rein d'accumulation par la présence de leurs chloragosomes qui sont de véritables calculs à structure complexe. HANSON (1949) admet une fonction à la fois nutritive, métabolique et excrétrice, soupçonnant le rôle des cellules chloragogènes dans la formation ou la destruction du pigment sanguin.

4° Rôle dans la sécrétion de l'hémoglobine. — KENNEDY et DALES (1958) ont montré, par des méthodes spectroscopiques et chromatographiques, la présence de porphyrines (coproporphyrines III en grande concentration, traces de coproporphyrine I et porphyrine tricarboxylique) dans les cellules du corps cardiaque d'un certain nombre de Polychètes (*Amphitrite*, *Terebelle*, *Lañice*, *Audouinia*, *Melinna*, *Flabelligera*, *Polycirrus*), ainsi que dans les cellules du tissu chloragogène d'Arénicole.

Ces faits sont un argument en faveur d'une *fonction hématopoïétique* du corps cardiaque des Polychètes et du *tissu chloragogène* extravasculaire d'Arénicole, n'excluant pas la participation de ces organes aux fonctions d'excrétion ou de stockage de produits de réserve.

Ces auteurs trouvent également des porphyrines libres dans les cellules de la paroi du corps de l'Arénicole, la plus grande concentration de coproporphyrine III étant retrouvée dans les spécimens noirs. Les granules bruns (chloragosomes du corps cardiaque et du tissu chloragogène) seraient en fait de l'hématine.

Un parallélisme est établi par les auteurs entre les porphyrines libres des animaux marins et les pigments retrouvés dans les porphyrines humaines. Ainsi, DALES et KENNEDY pensent, à la suite de leurs travaux biochimiques, que le corps cardiaque des Polychètes est hématopoïétique, confirmant l'ancien point de vue de MEYER (1887).

Par des voies de recherches différentes, nous avons été amenés aux mêmes conclusions en ce qui concerne les cellules chloragogènes d'Arénicole. Rappelons que cette hypothèse est discutée au chapitre IV de ce travail.

5° Evolution des cellules chloragogènes. — Parmi les auteurs reconnaissant la nature excrétrice du tissu chloragogène, les opinions diffèrent sur le devenir des *excreta* et des cellules qui les contiennent. Pour les uns, la chute des cellules dans le cœlome est plus ou moins accidentelle et non nécessairement liée à leur fonction (ROSA, 1902). Pour LEYDIG (1865), TIMM (1883), VEJDovsky (1884), KÜKENTHAL (1885) et BEDDARD (1890), chez les Oligochètes, ces cellules tomberaient toujours dans le cœlome, s'y désagrégeraient, pour être expulsées finalement dans les néphridies, mais selon WILLEM et MINNE (1899), cette chute serait due à un traumatisme causé par la manipulation, les phénomènes d'excrétion consistant en un rejet de substances solubles dans

la cavité cœlomique. Les cellules tombées accidentellement dans le cœlome seraient phagocytées par les amibocytes.

Pour CUÉNOT (1891), les grains chloragogènes sont expulsés dans le cœlome, phagocytés et digérés par les amibocytes. LIEBMANN (1942) pense que les cellules péritonéales libres sont des chloragocytes qui se sont détachés; il les appelle alors éléocytes. Ces éléocytes sont retrouvés dans la corde nerveuse, les testicules, les ovaires. Ils joueraient un rôle nutritif et prendraient une part active à la régénération après les blessures.

Chez les Oligochètes, SEMAL VAN GANSEN pense qu'à l'état normal les cellules chloragogènes se détachent de plusieurs façons : cellule entière avec le noyau, ou massue terminale anucléée, ou massif de plusieurs cellules. Pour lui, ces cellules sont des éléments de déchets qui vont être phagocytés par des lymphocytes qu'ils attirent. Ces lymphocytes sont les « amibocytes » décrits par ROSA (1898) et FAURÉ-FRÉMIET (1925), et nommés « leucocytes » par LIEBMANN (1942). Les « corps bruns » représenteraient des groupes d'amibocytes ayant phagocyté des cellules chloragogènes appauvries en substances de réserves, vieilles et grossissant par dépôts successifs d'amibocytes bourrés de déchets.

6° Homologie dans les autres embranchements. — Beaucoup d'auteurs ont tenté des comparaisons entre ce tissu chloragogène et divers organes ou systèmes trouvés chez les Mollusques, les Insectes ou les Vertébrés.

En 1887, CHALMERS et GIBSON comparent la fonction du tissu chloragogène à celle du tissu hépatique des organismes supérieurs.

En 1887, GROBBEN compare ce tissu à la glande péricardique des Mollusques à cause des concrétions contenues dans ces cellules provenant d'une partie spécialisée de l'épithélium cœlomique.

Selon WILLEM, ces cellules ont un double rôle : accumulation de réserves nutritives et soustraction au liquide de circulation de produits de désassimilation. Au point de vue du contenu et de la fonction, il trouve donc une analogie frappante entre le système chloragogène de l'Arénicole et le corps adipeux des Insectes dont les cellules renferment de la graisse, de l'urate neutre de sodium et des granulations pigmentaires.

SEMAL VAN GANSEN (1958) pense que la structure de ces cellules rappelle celle d'un tissu histiocyttaire par la possibilité de capter les poussières minérales nocives et de fixer les toxines du sang intestinal. Mais leur disposition, leur propriété de synthèse glycogénique, leur rôle probable dans le métabolisme de la graisse, dans la formation de l'urée, en font aussi un organe propre à suppléer, en de nombreux phénomènes, à l'absence de glande hépatique véritable.

CHAPITRE II

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

A. — FIXATIONS ET COLORATIONS DU TISSU CHLORAGOGÈNE POUR L'EXAMEN AU MICROSCOPE OPTIQUE

Les Arénicoles à l'âge adulte ne peuvent être élevées au laboratoire. Les seuls élevages réalisés ont été ceux de très jeunes animaux de 1 à 2 cm de long, permettant une survie d'un mois au maximum.

Les animaux que nous avons étudiés proviennent de Concarneau (1). Les animaux pêchés l'après-midi sont enfermés dans un carré de toile de jute imbibée abondamment d'eau de mer. Ce paquet est noyé dans des algues également mouillées, et placé dans des boîtes galvanisées, avec aération. Les animaux voyagent de nuit et parviennent au laboratoire le lendemain matin. En général, ils sont dans un état très satisfaisant; exceptionnellement, au moment des mois chauds, quelques animaux semblaient en mauvais état.

Les Arénicoles, quel que soit leur âge, doivent avoir des soies dressées, le moindre attouchement de la cuticule provoque une vive contraction. En incisant, le liquide cœlomique jaillit, incolore ou d'aspect laiteux. Les contractions des vaisseaux sont nettes à la loupe binoculaire. Tout animal ne présentant pas tous ces caractères a été rejeté.

Nous avons étudié au total 155 exemplaires d'*Arenicola marina* L., dont la taille variait de 5 à 20 cm.

Le prélèvement du tissu chloragogène pour l'étude au microscope optique a été fait de la manière suivante : l'animal, fixé sur un liège aux deux extrémités, est ouvert sur la face ventrale. On repère à la loupe le tissu chloragogène; il se présente comme un fin chevelu fixé sur le vaisseau ventral, au niveau de la jonction estomac-intestin. Avec des ciseaux, on sectionne l'intestin et le vaisseau ventral sur 3 ou 4 cm et on plonge le tout dans du formol à 20 % amené à pH 8-9. Lorsque la fixation est réalisée, on peut très facilement séparer ce tissu de l'intestin sans causer de dommages. Les inclusions ont été faites à la paraffine après déshydra-

(1) Nous avons plaisir à remercier M. R. BOUXIN et ses collaborateurs, grâce à qui, à la demande de M. le Recteur ROCHE, nous avons pu examiner un grand nombre d'Arénicoles.

tation à l'alcool. Les coupes, de 5 microns d'épaisseur, sont exécutées au microtome de Stiasnie. Les colorations pratiquées ont été les suivantes : coloration de Dominici selon Masson; coloration du Trichrome vert Lumière; réaction de P. A. S.; réaction de Perls; coloration au Cyanol, selon DUNN (1946), pour la caractérisation de l'hémoglobine; réaction à la Benzidine, pour les peroxydases et l'hémoglobine.

B. — FIXATIONS ET COLORATIONS DU TISSU CHLORAGOGÈNE POUR L'EXAMEN AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE

Les problèmes de la fixation et de l'inclusion pour la coupe et l'examen au microscope n'ont pu être résolus qu'après la mise au point de l'inclusion dans l'Epon selon LUFT (1961), car, avec le méthacrylate, nous n'avons jamais réussi à obtenir des cellules intactes. Il semble que, chez ces animaux, la polymérisation du méthacrylate fasse éclater les cellules, soit entièrement, soit par petites zones; les organites, tels que les mitochondries, n'ont jamais été convenablement conservés par le méthacrylate. Différents fixateurs ont été essayés. Les meilleurs résultats ont été obtenus de la manière suivante : les fins cæcums flottant librement dans le cœlome sont coupés délicatement à leur base avec de fins ciseaux sous loupe binoculaire, ces petites touffes sont disposées dans une goutte de fixateur de DALTON (1955), amenée à pH 8 par une solution de potasse, l'adjonction de sucrose à la solution tamponnée d'acide osmique n'a pas donné de très bons résultats. Par contre, le pH du fixateur paraît important, les pH neutres ou acides causant des détériorations. Le pH de 8 à 9 donne de bons résultats. Le temps de fixation optimum est de 5 minutes. Le matériel est ensuite passé directement dans l'alcool à 70° qui réalise le lavage en même temps que le début de la déshydratation pendant 5 minutes.

La déshydratation se poursuit par le passage dans des alcools de concentration croissante, 90°, puis absolu et absolu bidistillé, 5 minutes chaque fois. Puis, on remplace l'alcool absolu bidistillé par de l'oxyde de propylène pendant 10 minutes. Le dernier bain avant l'inclusion étant celui d'Epon et d'oxyde de propylène qui dure 10 minutes environ, on agite vigoureusement pour réaliser une meilleure pénétration, car le mélange est visqueux. Puis on place les fins filaments au fond d'une capsule de gélatine, et on remplit la capsule d'Epon.

Le mélange adéquat étant : 60 % de mélange A (62 cm³ d'Epon 812 pour 100 cm³ de D. D. S. A.), 40 % de mélange B (100 cm³ d'Epon pour 89 cm³ de N. M. A.), auquel on ajoute l'accélérateur le D. M. P. dans la proportion de 1,5 à 2 %. On met les capsules contenant la résine à polymériser une nuit à 35°, 24 heures à 45°, 24 heures à 60°.

On peut couper les blocs dès le lendemain qui suit la sortie de l'étuve, mais la qualité des coupes s'améliore avec le temps.

D'autres fixateurs que l'acide osmique ont été utilisés, en particulier le permanganate selon LUFT (1956) et REVEL et coll. (1960).

Les coupes ont été faites à l'aide de l'ultramicrotome LKB; elles sont recueillies sur des grilles recouvertes de formvar ou d'une pellicule de carbone, et colorées avec des sels de plomb pour augmenter le contraste, selon WATSON (1958) ou KARNOVSKI (1961).

Les préparations ont été examinées au microscope électronique Siemens (type Elmiskop I) avec une tension de 80 kW.

C. — FIXATIONS ET COLORATION NÉGATIVE DU SANG D'ARÉNICOLE

Pour l'étude des molécules d'hémoglobine de sang d'Arénicole au microscope électronique, la technique de coloration négative de BRENNER et HORNE (1959) a été utilisée. Le sang d'Arénicole recueilli par ponction est dilué 50 fois dans de l'eau distillée, cette dilution est mélangée à partie égale avec une solution d'acide phosphotungstique à 2 % amenée à la neutralité par une solution de potasse. Le mélange est vaporisé en très fines gouttelettes sur une grille recouverte de peau de carbone. On recherche, au microscope électronique, l'épaisseur optimum des plages où les molécules apparaissent en blanc sur le fond noir de la couche opaque aux électrons, en général sur le bord des gouttes.

CHAPITRE III

ÉTUDE HISTOLOGIQUE DU SYSTÈME CHLORAGOGÈNE

A. — DISPOSITION ANATOMIQUE DES CELLULES CHLORAGOGÈNES

Comme l'avaient déjà signalé GAMBLE et ASHWORTH en 1898, l'importance de ce tissu varie avec l'âge de l'animal.

Lorsqu'on dissèque un jeune animal de 6 cm de long, on remarque à la loupe binoculaire quelques fins cæcums prenant leur attache sur le vaisseau ventral, à partir du niveau de la jonction estomac-intestin jusqu'à la partie postérieure. On voit très bien que chaque cæcum est constitué par une très fine ramification du vaisseau ventral. La couleur de ce lacin est souvent jaune.

L'importance de ces cæcums augmente avec l'âge. Chez les adultes, de 20 cm de long, le vaisseau ventral est recouvert par des paquets de ces cæcums qui flottent dans le cœlome. Leur couleur est très variable, du jaune pâle au noir, en passant par tous les tons de marron verdâtre. La couleur du tissu est en rapport avec celle des téguments. Un animal rose a un tissu chloragogène jaune, un Ver aux téguments noirs a un lacin de cæcums colorés en noir.

Signalons encore que cette « fine chevelure » existe de plus, chez les adultes, sur les vaisseaux néphridiens et certains vaisseaux des parois du corps.

Problème du corps cardiaque de l'Arénicole.

Chez l'Arénicole, le corps cardiaque est peu développé. Dans le cas d'animaux adultes de grande taille, on peut rencontrer parfois, à l'intérieur du cœur, un petit granule verdâtre représentant le corps cardiaque. Examiné en coupe au microscope optique, il se montre formé de cellules au contenu identique à celui des cellules chloragogènes. ROMIEU avait d'ailleurs, en 1923, montré qu'il s'agissait d'un chloragogène intravasculaire. Etant donné la faible importance de cet organe chez l'Arénicole, par rapport au tissu chloragogène, l'étude au microscope électronique ne nous en a pas paru justifiée.

B. — ÉTUDE CYTOLOGIQUE DES CELLULES CHLORAGOGÈNES

Le vaisseau ventral est bordé d'un manchon de cellules; il présente des ramifications très fines, toutes bordées de ces mêmes cellules. Ces ramifications sont fermées à leur extrémité. Le vaisseau est limité par une zone sombre assez épaisse (1 à 2 microns) (fig. 1). On remarque,

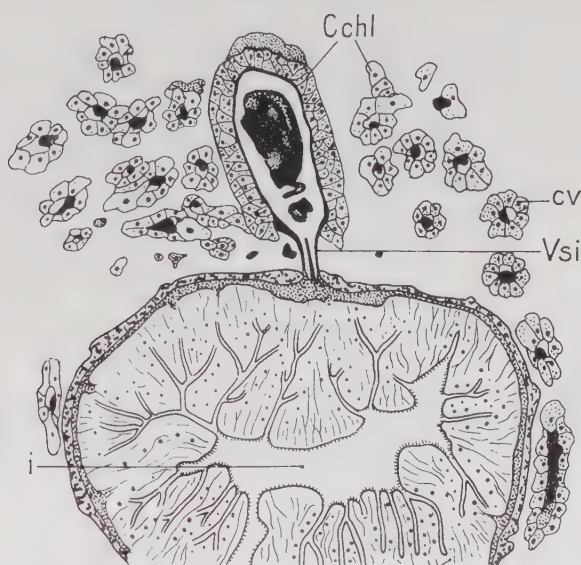


FIG. 1. — Coupe de la région péritonéale d'*Arenicola*, entre l'intestin et le cœlome. En bas, on peut voir les cellules épithéliales de l'intestin. Au-dessus, le vaisseau ventral, rempli d'hémoglobine, est entouré de cellules chloragènes; il communique avec le vaisseau sus-intestinal (*Vsi*). A droite et à gauche, on remarque la coupe transversale de fins cæcums vasculaires (*cv*) entourés de cellules chloragènes (*Cchl*).

entre les cellules chloragènes, des cellules d'un autre type : le noyau est plus petit, très foncé, compact, le cytoplasme foncé, basophile, contraste avec celui des cellules chloragènes car il est très mince et s'étrangle entre les cellules chloragènes pour atteindre le vaisseau. Nous les nommerons cellules basophiles (pl. XIX).

La cellule chloragène. — Ces cellules, qui ont une vingtaine de microns de longueur, montrent une polarité très nette. Le noyau est situé au pôle basal près de la membrane cytoplasmique appliquée du

côté du vaisseau. L'extrémité arrondie est tournée vers le cœlome (pl. I).

Lorsqu'on examine une coupe optique de ces cæcums, on est frappé par le fait que toutes les cellules d'un même animal présentent un aspect identique : par exemple, lorsqu'une cellule a des chloragosomes, toutes les cellules du tissu de ce Ver en auront et de même taille, soit grands, soit petits; toutes les cellules renferment ou non des vacuoles d'hémoglobine, qu'elles soient situées sur un cæcum antérieur, ventral ou latéral (vaisseau de la paroi des téguments) (fig. 2).

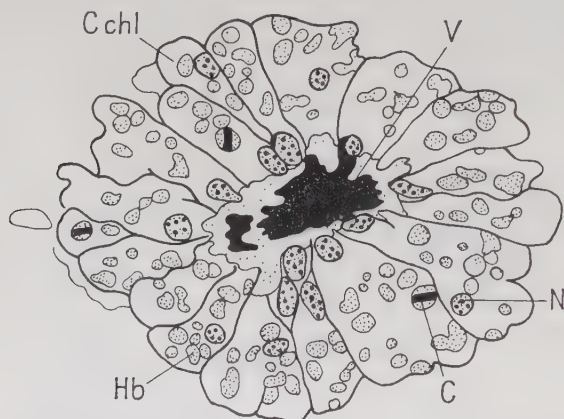


FIG. 2. — Détail de la coupe transversale de l'un de ces cæcums vasculaires. Au centre, l'hémoglobine du vaisseau (V) est limitée par une zone assez épaisse. Tout autour, en manchon, sont disposées les cellules chloragogènes (Cchl) dans lesquelles on reconnaît le noyau (N) et de nombreuses vacuoles d'hémoglobine (Hb), où parfois un cristal (C) tend la vacuole.

Autrement dit, le tissu chloragogène présente une évolution synchronisée : toutes les cellules chloragogènes sont au même stade au même moment; nous essaierons, après la description des organites cellulaires, de faire un tableau des différents stades.

1° Le noyau.

Les cellules chloragogènes ont un noyau généralement situé dans la partie basale de la cellule. Nous n'avons jamais rencontré de noyaux en mitose. Par contre, très rarement, nous avons pu observer des cellules binucléées. Dans ce cas, les deux noyaux sont voisins, mais séparés par la centrosphère.

Le noyau est toujours sphérique ou ellipsoïdal, ne présentant ni encoches, ni incisures.

Membrane nucléaire. — Le microscope électronique montre bien l'existence de la double membrane nucléaire.

La membrane externe est revêtue de ribosomes et décrit parfois de nombreuses sinuosités. Les deux membranes nucléaires sont interrompues par de nombreux pores; en coupe sagittale, le pore mesure environ 500 Å; en coupe tangentielle, il se présente comme une sphère claire au centre de laquelle on remarque un fin granule dense, cette zone étant cernée d'un matériel sans structure plus foncé (anneau osmiophile); l'ensemble mesure 1 000 Å. Les pores peuvent être nombreux, parfois assez rapprochés les uns des autres, distants seulement de 1 000 Å (pl. IV). Ils sont identiques à ceux décrits dans d'autres cellules par différents auteurs (AFZELIUS, 1955). Nous n'avons pas pu mettre en évidence de passage de matériel à travers les pores, comme l'ont montré ANDERSON et coll. (1956).

Lorsque la cellule est fixée au permanganate de potassium, on ne voit pas les ribosomes non conservés par ce fixateur, mais on distingue très bien les pores nucléaires. Il faut remarquer que les pores sont plus nombreux dans les noyaux où les mottes de chromatine bien individualisées s'échelonnent le long de la membrane; en général, le pore se trouve face à une zone claire située entre deux amas de chromatine. Ceci a déjà été remarqué par KUROSUMI (1961), dans les cellules thyroïdiennes en phase de sécrétion.

Caryoplasme. — Sa structure varie beaucoup d'un animal à l'autre, mais très peu d'une cellule à l'autre chez le même Ver; on sait que les techniques de préservation du matériel nucléaire pour l'examen des coupes au microscope électronique sont encore bien peu satisfaisantes. Toutefois, il est possible de faire une corrélation entre l'aspect de la structure nucléaire vue en microscopie optique et celle observée en microscopie électronique.

Dans un premier type de noyau, on observe un aspect lisse où seuls sont apparents les nucléoles. Ces noyaux, examinés au microscope électronique, montrent une structure chromatinienne uniforme; des granules plus ou moins denses, de taille régulière, sont dispersés sur un fond clair entre la chromatine.

Un second type de noyau est celui où les mottes de chromatine sont très apparentes au microscope optique. Le même aspect se retrouve en microscopie électronique. Les amas de chromatine sont accolés à la membrane nucléaire en masses irrégulières. Le centre du noyau est occupé par un ou deux amas. Les zones interchromatiniennes sont remplies par un matériel clair, dans lequel sont parsemés quelques grains denses analogues à ceux observés dans le premier type de noyau (pl. II).

On trouve tous les intermédiaires entre ces deux types de noyaux.

Nucléoles. — Il peut en exister plusieurs par cellule. Ils ont une forme arrondie. Ils ne sont jamais limités par une membrane. Ils existent dans les noyaux de tous types. Ils sont constitués par un amas

de particules de 100 à 140 Å de diamètre, très opaques aux électrons.

Cette structure est très comparable à celle observée par de nombreux auteurs dans diverses cellules (PORTER, 1954; BERNHARD et coll., 1955; LAFONTAINE, 1958; BROWN et RIS, 1959, etc.).

Vacuoles nucléaires. — Dans un cas, nous avons observé des vacuoles dans un certain nombre de noyaux (pl. III). Il s'agit d'une vacuole unique de grande dimension (1,5 micron), limitée par une membrane simple, et remplie d'une substance très claire dans laquelle a précipité un matériel très dense. Cette vacuole est parfois située contre la membrane nucléaire; elle peut même faire saillie dans le cytoplasme. Son rôle est inconnu.

Rapport du noyau avec les mitochondries. — Les mitochondries sont souvent groupées autour du noyau dans la zone basale de la cellule, près du vaisseau. On peut parfois observer des rapports étroits entre la membrane nucléaire externe et les mitochondries. Celles-ci sont souvent situées très près de la membrane nucléaire qui est soulevée, paraît interrompue au niveau d'une mitochondrie où l'on remarque une crête s'ouvrant à cet endroit. Enfin, la membrane externe de la mitochondrie peut être « reversée » au niveau du contact avec le noyau. Cette structure a déjà été observée par CHANDRA (1962), dans le foie et le rein du Hamster. Il est possible que de telles dispositions puissent signifier qu'il y a, dans certains cas, passage de substance intramitochondriale dans le noyau ou inversement. Dans d'autres cas, la mitochondrie présente un creux dans lequel s'imbrique une vésicule résultant du soulèvement de la membrane externe du noyau. Deux crêtes s'ouvrent dans la mitochondrie à ce niveau, tandis que la membrane nucléaire paraît rompue. Enfin, on peut noter que, dans bien des cas (pl. IV), les mitochondries appliquées contre le noyau se trouvent situées en face d'une zone nucléaire riche en pores; on peut parfois en compter quatre, le long de la zone où est située une mitochondrie.

Ces rapports entre mitochondries et noyaux ont déjà été évoqués par FRÉDÉRIC (1958) qui a observé, en microcinématographie, que les mitochondries venaient souvent en contact avec le noyau et qu'à ce point la membrane nucléaire paraissait modifiée. ORNSTEIN, en 1956, a émis l'hypothèse que du matériel pouvait s'échanger entre noyau et mitochondrie; son étude repose sur l'examen au microscope électronique d'oocytes d'un Batracien. En 1959, BRANDT et PAPPAS montrent chez une Amibe une continuité entre les membranes externes des mitochondries et des noyaux. HOFFMAN et GRIGG (1958), constatant ces rapports, avaient suggéré l'hypothèse de la formation des mitochondries par le noyau.

On ne peut, à l'heure actuelle, trancher cette question, mais il semble probable qu'il existe des échanges entre ces deux organites. Les travaux de BRACHET (1955) ont montré que l'absence de noyau causait

un déficit dans les enzymes mitochondriaux; BRANDT et PAPPAS (1959) ont suggéré que les mitochondries s'accolaient au noyau pour renouveler l'A. R. N. qu'elles contiennent. Il ne s'agit là que d'une hypothèse.

Rapport du noyau avec la zone de Golgi. — Lorsque la zone de Golgi est juxta-nucléaire, on peut observer certains rapports entre elle et la membrane externe nucléaire.

Dans un cas où la cellule est binucléée, la zone de Golgi contenant les deux centrioles se situe entre les deux noyaux. Trois canalicules golgiens présentent à leurs extrémités de petites vésicules claires de 300 Å de diamètre. L'une de ces vésicules est accolée à la membrane externe du noyau qui, à ce niveau, est soulevée. Cette membrane est revêtue de ribosomes et elle doit donc être considérée comme appartenant à l'ergastoplasme (1).

Des rapports semblables entre membrane externe du noyau et corps de Golgi ont été observés dans les leucocytes (BESSIS et coll., 1958).

2° Les mitochondries.

Les mitochondries sont le plus souvent groupées dans la région basale de la cellule, entre le vaisseau et le noyau. Fréquemment, elles entourent le noyau, et nous venons de voir les rapports topographiques étroits existant entre ces deux organites.

La région apicale est souvent dépourvue de mitochondries; on peut toutefois en trouver quelques-unes le long des bords des membranes cytoplasmiques séparant deux cellules.

Leur structure et leur taille varient beaucoup, mais leur caractéristique générale est d'être gonflées. Leur matrice est claire, finement granuleuse; on n'y trouve qu'exceptionnellement les grains denses habituellement présents dans les mitochondries de différents tissus de Vertébrés.

Cet aspect de gonflement n'est certainement pas dû à la fixation, car les cellules myo-endothéliales qui bordent les vaisseaux d'un certain calibre renferment de petites mitochondries dont les crêtes sont nombreuses et la matrice non gonflée.

Les crêtes des mitochondries des cellules chloragènes sont courtes, occupant surtout la périphérie de l'organite. Un détail déjà signalé plus haut : on peut trouver, comme chez le Hamster, des membranes « reversées ». Dans certaines mitochondries, possédant des crêtes, on

(1) Différents arguments ont été donnés par les auteurs pour démontrer que l'espace périnucléaire représentait une cavité ergastoplasmique. WATSON, en 1955, avait montré que la membrane nucléaire était en relation avec les membranes du réticulum endoplasmique. POLICARD et coll. (1956) ont fait les mêmes observations. Cette continuité a fait penser que des substances absorbées par les cellules pouvaient se retrouver dans l'espace périnucléaire ayant cheminé par la voie de l'ergastoplasme. PALAY (1960) a montré que des gouttes de lipides absorbées par la membrane de l'épithélium intestinal se retrouvaient dans l'espace périnucléaire.

peut trouver aussi des tubules dont le diamètre peut atteindre 0,2 micron (pl. V). Ces tubules, qui remplacent les crêtes dans les mitochondries des Protozoaires (SEDAR et coll., 1956, et POWERS et coll., 1956), ont été retrouvés chez des végétaux (BUVAT et LANCE, 1958) et chez des Métazoaires.

Au cours de la différenciation chez *Allium cepa*, BUVAT et LANCE ont vu que les mitochondries présentaient des changements morphologiques : dans une cellule se transformant en cellule à réserves, les crêtes des mitochondries se transforment en tubules, et la matrice devient claire.

D'autres exemples de cette transformation ont été signalés chez les Insectes (dans les tubes de Malpighi [BEAMS et coll., 1955]), chez les Vertébrés (rein et organes sécrétant des hormones stéroïdes [BELT et coll., 1956]). Ces mitochondries à tubules se trouvent généralement dans des cellules dont le métabolisme est intense.

Nous avons vu que les mitochondries étaient souvent en rapport étroit avec la membrane nucléaire externe et les pores nucléaires; on peut aussi constater des rapports topographiques avec l'appareil de Golgi et avec des globules lipidiques. Ces derniers ont été longuement décrits dans les cellules hépatiques des Mammifères au cours du jeûne (PALADE, 1959).

3° L'ergastoplasme.

Dans les cellules chloragènes mûres, il est toujours modérément développé.

Le long des membranes cytoplasmiques séparant deux cellules, on remarque fréquemment des sacs ayant au maximum 0,5 micron de long sur la paroi desquels sont attachés des ribosomes dont la taille varie de 140 à 200 Å. A la place de sacs, on voit souvent des vésicules plus ou moins dilatées de 0,2 micron (pl. VI); elles sont inégalement recouvertes de ribosomes, si bien qu'on observe souvent la continuité entre membranes lisses et membranes granuleuses.

Au voisinage de l'appareil de Golgi, on peut trouver quelquefois des sacs ergastoplasmiques très dilatés. Il n'a pas été possible de mettre en évidence de communication entre ces sacs revêtus de ribosomes et les saccules du Golgi.

Il arrive que, dans une cellule, des plages soient constituées par des vésicules rondes d'ergastoplasme. Elles sont en général situées près de la membrane cytoplasmique.

Enfin, la membrane externe du noyau est le plus souvent revêtue de ribosomes.

Des ribosomes libres peuvent être dispersés dans le cytoplasme. Il est difficile de savoir s'il s'agit vraiment de ribosomes, car le cytoplasme contient de nombreux corps figurés, parmi lesquels de l'hémoglobine et du glycogène. Ce dernier, lorsqu'il est en amas, constitue

une petite rosette caractéristique, qui ne peut être confondue avec les ribosomes, mais il est possible qu'il existe à l'état particulière.

Chez certains Vers, à certains stades d'évolution, le cytoplasme ne renferme pas de glycogène, mais ce sont alors les molécules d'hémoglobine qui peuvent prêter à confusion. En effet, si la molécule d'hémoglobine peut se reconnaître lorsqu'on la voit dans certaines positions privilégiées, elle apparaît souvent comme un granule de 130 à 180 Å qui peut être confondue avec un ribosome.

On peut être surpris que, dans une cellule aussi active, l'ergastoplasme ne soit pas plus développé. Au microscope optique, la basophilie de ces cellules est discrète. On est frappé, au contraire, par la basophilie extrême des cellules à cytoplasme peu abondant et étiré entre des cellules chloragogènes. Nous avons appelé ces cellules : cellules basophiles pour les différencier des cellules chloragogènes. Nous verrons plus loin que ces cellules sont caractérisées, au microscope électronique, par l'importance du développement de l'ergastoplasme. Plusieurs arguments donnent à penser que ces cellules vont évoluer en cellules chloragogènes. On peut supposer que la synthèse des précurseurs de l'hémoglobine a lieu dans ces cellules où la quantité d'A. R. N. est très importante, et que le moment où la molécule apparaît visible dans les canalicules du Golgi correspond à la fin du phénomène sécrétoire, expliquant la diminution de la basophilie.

Un tel phénomène a été observé par plusieurs auteurs dans différents processus sécrétoires: FAVARD (1958) dans les spermatocytes d'*ascaris* (1), PALAY (1958) dans l'épithélium intestinal, SLAUTTERBACK et FAWCETT (1959) dans la sécrétion du nématocyste. Chaque fois que la synthèse protéique paraît terminée, on assiste à une régression de l'ergastoplasme (MUNGER, 1958; FERREIRA, 1959). Il en est de même dans les érythroblastes de Mammifères où, d'ailleurs, la disposition du réticulum est très particulière (BESSIS et BRETON-GORIUS, 1956).

4° Le centrosome.

Le centrosome des cellules chloragogènes ressemble à celui des érythroblastes et des leucocytes des Vertébrés (POLICARD et coll., 1958) : il est composé de deux centrioles entourés par le corps de Golgi.

Centrioles. — On y retrouve les 9 groupes de tubules constituant la paroi d'un cylindre de 1 400 Å de long (DE HARVEN et BERNHARD, 1956). Les petites masses latérales décrites en 1958 par BESSIS et coll., dans les leucocytes, sont retrouvées dans les cellules chloragogènes quoique en nombre plus réduit.

(1) Il arrive aussi que la protéine synthétisée par l'ergastoplasme ne s'accumule pas dans les cavités de celui-ci, mais dans un territoire cytoplasmique limité par des couches concentriques de réticulum (FAVARD, 1961).

Lorsque la coupe intéresse les deux centrioles, on peut remarquer qu'ils sont disposés perpendiculairement (pl. XIII, fig. 1).

Il existe toujours, autour des centrioles, une zone de 0,5 micron de large et qui peut atteindre 1,5 micron de longueur, non délimitée par une membrane, dont la structure est très différente du cytoplasme environnant : elle est claire mais probablement dense, car elle repousse toutes les vésicules golgiennes. Il s'agit probablement de la zone astérienne (pl. XIII, fig. 2). Parfois, cependant, on peut y observer quelques molécules d'hémoglobine ou quelques granules plus petits représentant peut-être les ribosomes.

Appareil de Golgi. — On sait qu'en 1898, GOLGI, par imprégnation à l'argent, a pu mettre en évidence, dans des cellules nerveuses, un réseau de localisation et de forme bien définies. Dans les cellules germinales des Vertébrés et dans certaines cellules d'Invertébrés, les corps de Golgi sont disposés non plus en un réseau, mais sous forme d'écailles ou dictyosomes (PERRONCITO, 1910). Dans ces deux types de structure, les imprégnations métalliques mettent en évidence deux constituants : une partie interne chromophile, une partie externe où vient se déposer le sel d'argent ou d'osmium et qui est la substance chromophile.

De multiples travaux ont alimenté depuis ces premières descriptions, une des plus violentes controverses qui ait opposé les biologistes.

Pour de nombreux auteurs, l'appareil de Golgi, tel qu'il est révélé par les techniques d'imprégnation, n'existe pas, et ils pensent qu'il doit être confondu soit avec le vacuome, soit avec un type mitochondrial ou des enclaves lipidiques.

PARAT (1928) pense qu'il s'agit d'un artéfact entre des vacuoles qui captent le rouge neutre.

WALKER et ALLEN (1928) se servant de modèles chimiques étalés sur lame et traités par les techniques classiques, reproduisent les figures de l'appareil réticulaire de Golgi. Ils pensent ainsi démontrer qu'il s'agit d'un artéfact.

Chez les Protozoaires, GRASSÉ (1926), puis DUBOSCQ et GRASSÉ (1933) montrèrent que l'appareil parabasal des Flagellés devait être considéré comme l'équivalent de l'appareil de Golgi. Toutefois, après un demi-siècle de publications et de controverses sur ce sujet, la microscopie optique n'avait pas permis de conclusions rigoureusement démontrées.

DALTON, en 1952, donna les premières descriptions de l'ultra-structure de l'appareil de Golgi dans les cellules hépatiques et intestinales de la souris.

GRASSÉ et coll. (1955) montrèrent, au microscope électronique, la structure des dictyosomes et leur identité foncière avec l'appareil de Golgi des Vertébrés. GRASSÉ a montré, en outre, l'identité de l'appareil parabasal et des corps de Golgi (1956).

De nombreux travaux sont venus, depuis, confirmer l'existence d'un organe autonome dans la plupart des cellules de Vertébrés (DALTON,

1954; FARQUHARD et coll., 1957; HAGUENEAU et coll., 1955; POLLISTER, 1957; STOECKENIUS, 1957; ZELANDER, 1959; ZETTERQUIST, 1956), d'Invertébrés (CARASSO et FAVARD, 1961; LACY, 1957; AFZELIUS, 1956), de Protistes (GRASSÉ, 1957) et même de cellules végétales (WHALEY, 1959 et BUVAT, 1957), où son existence cependant n'avait pas été soupçonnée des Botanistes. Quelques études biochimiques ont été faites sur des membranes golgiennes isolées (KUFF et DALTON, 1959).

Etant donné l'importance de cet organite dans le sujet de ce travail, nous reportons sa description détaillée au Chapitre IV, auquel nous nous permettons de renvoyer le lecteur.

5° *Les chloragosomes.*

Une coloration brune ou noire du tissu chloragogène implique que les cellules contiennent des chloragosomes.

Au microscope optique, sur coupes colorées, on remarque d'emblée que, suivant les Vers, les cellules peuvent en contenir plus ou moins, mais d'une manière égale en nombre et en taille.

Sur des empreintes sur lames de ce tissu, colorées au Giemsa, la plupart des cellules sont éclatées, mais les organites cellulaires restent groupés et les chloragosomes apparaissent comme des granulations violet foncé, presque noires.

La présence des chloragosomes est en rapport avec la taille du Ver. Les petites Arénicoles de 5-6 cm ont toujours des téguments roses et un tissu chloragogène de couleur jaune sans chloragosomes. Les plus grosses (20 cm) présentent des téguments allant du rose foncé au noir, en passant par des teintes qui vont du marron vert au noir; le tissu chloragogène variant alors du jaune au noir, en passant par toutes les teintes de marron.

Les chloragosomes examinés au microscope électronique se présentent comme des sphères opaques d'environ 1 micron de diamètre. Ils sont toujours limités par une membrane de 70 Å environ d'épaisseur. Cette membrane est séparée de la substance opaque par un espace clair de même épaisseur. Très souvent, dans la même cellule, on rencontre un second type de granulation dont le centre est moins foncé, laissant apercevoir une structure finement granuleuse. Quelquefois, la substance noire, très osmophile, est réduite à une languette appliquée contre une partie de la membrane. Certains chloragosomes (en petit nombre) n'ont que 0,3 micron de diamètre et l'on constate l'existence d'intermédiaires entre ces petits chloragosomes et les vésicules de 0,1 micron de diamètre de la zone de Golgi.

On voit en effet, dans la lumière des canalicules golgiens, une substance très opaque qui occupe le centre de l'ampoule terminale; en se détachant du canalicule, ces vésicules libres constituent de petites granulations très semblables aux chloragosomes.

Chez certains Vers dont le tissu chloragogène est noir, on peut remarquer, à côté de chloragosomes typiques, des masses composites de 3 à 4 microns, très complexes, probablement de même nature. Ces masses affectent des images très variées : tantôt accollement de plusieurs vacuoles contenant de gros corps denses, la périphérie montrant fréquemment des formes myéliniques constituées par l'empilement de plusieurs feuilletés très osmiophiles; tantôt grosse masse irrégulière constituée de matériel finement granulaire, montrant de place en place un aspect feuilleté (pl. XVIII).

Enfin, il arrive qu'on trouve des chloragosomes très denses, à structure homogène, accolés par 2, 3 ou 4, constituant des masses polylobées, plus ou moins irrégulières.

Quelle est l'origine de ces chloragosomes ?

Dans une thèse de 1936, BELL, étudiant la cytologie des cellules chloragogènes d'un Enchytraëidæ, remarque qu'il existe dans ces cellules, d'une part des chloragosomes et, d'autres part, des granules périnucléaires noirs. Chez les jeunes Vers, seuls ces derniers existent. Chez les plus âgés, il existe des zones de transformation de sphères osmiophiles périnucléaires en chloragosomes. Ce matériel périnucléaire est constitué de substances lipoïdes. BELL pense que ces sphères sont synthétisées, dans la zone de Golgi périnucléaire, au même titre que les granules de zymogène.

Le microscope électronique semble confirmer chez l'Arénicole l'origine golgienne des chloragosomes.

Les chloragosomes ont-ils un rapport avec l'hémoglobine ?

Ce fait est discuté, nous l'avons vu précédemment, depuis plus d'un demi-siècle.

EISIG, en 1887, pensait déjà que le pigment des chloragosomes était un dérivé de l'hémoglobine. Mais WILLEM et MINNE (1900) ont prétendu que les chloragosomes de l'Arénicole étaient composés d'urate acide de sodium associé à un colorant jaune. Comme ces chloragosomes se retrouvent dans des cellules sans rapport avec les vaisseaux (cellules péritonéales, cellules de l'épithélium vibratile des lamelles de l'entonnoir néphridien, cellules à la surface des lames musculaires obliques de la région branchiale, cellules épidermiques), ces auteurs en ont conclu que les chloragosomes n'avaient aucun lien de parenté avec l'hémoglobine. Même conclusion de ROMIEU en 1923. Pour lui, les chloragosomes sont des concrétions puriques, à noyau d'urate acide de sodium, entourés d'une écorce lipoïde chargée d'une peroxydase. En 1947, BAHL montre que les granules réfringents jaune-brun des néphridies d'Oligochètes *semblables aux chloragosomes* donnent un spectre d'hémochromogène. Ces auteurs ont travaillé sur des corpuscules d'apparence identique, mais provenant de tissu et d'animaux très différents. Il existe en réalité des chloragosomes et des grains d'hémoglobine, comme nous le verrons plus loin. BLOCH RAPHAËL (1939) a remarqué que, chez certains Polychètes, il existe des variations de la quantité d'hémoglobine qui correspondent à la coloration exté-

rieure de l'animal, allant du jaune clair au marron-noir (Néphydiens), les papilles étant d'abord jaunes, puis grises, puis noires. Lorsque les papilles sont jaunes, il y a présence d'hémoglobine dans les cellules de la trompe; lorsque les papilles sont grises, l'hémoglobine est peu abondante, ce cycle dure 14 jours. Cette observation est à rapprocher de ce que nous avons observé dans le tissu chloragogène. Lorsque le tissu est jaune, nous avons toujours trouvé de l'hémoglobine intracellulaire. Lorsqu'on constate une couleur marron, il y a en même temps hémoglobine et chloragosomes, et le tissu noir correspond soit à la présence de chloragosomes seuls, soit à la présence simultanée d'hémoglobine et de chloragosomes. Il ne nous a pas été possible de savoir s'il existait chez l'Arénicole un cycle régulier. Il serait nécessaire pour cela d'expérimenter sur des animaux pendant de longues semaines, ce qui n'est pas actuellement possible ailleurs que dans une station de biologie marine.

Personnellement, nous n'avons pas effectué les tests biochimiques sur ces chloragosomes, et si, dans certains cas, on peut voir un début de cristallisation se produisant dans des granules apparentés aux chloragosomes, et si, de temps en temps, un granule sombre se trouve dans une vacuole d'hémoglobine, il semble hasardeux, sur cette simple constatation morphologique, d'en déduire qu'il existe une transformation d'hémoglobine en chloragosome ou vice-versa.

Rappelons que KENNEDY et DALES (1958) ont montré la présence de porphyrines dans les cellules chloragogènes d'Arénicole et les téguments de ce Ver; la quantité de coproporphyrines III se retrouve en plus grande quantité chez les Arénicoles aux téguments noirs.

6° Les inclusions lipidiques.

Elles ne sont pas constantes dans les cellules chloragogènes. Elles se reconnaissent très facilement par leur forme irrégulière, plus ou moins étoilée, et leur osmiophilie. Leur taille oscille autour de 1 micron. Lorsqu'on fixe au permanganate, ce fixateur ne préservant pas les lipides, on trouve des vacuoles de forme irrégulière dont seuls les bords sont très opaques et dont le centre est clair.

Chez les jeunes animaux de 5 à 6 cm de long, leur présence est constante; chez les adultes, leur absence a été constatée dans 3 cas sur 30 animaux examinés.

La présence d'enclaves lipidiques dans les cellules chloragogènes est connue depuis longtemps. SCHNEIDER, en 1896, signalait dans ces cellules, chez les Oligochètes, des globules qui noircissent à l'acide osmique. ROSA employait en 1903 le Soudan III pour les caractériser. ROMIEU rencontre aussi des graisses dans les cellules du corps cardiaque en 1923. SEMAL VAN GANSEN (1956) retrouve les enclaves grasses dans les cellules chloragogènes des Oligochètes et constate que

leur richesse est inversement proportionnelle à celle des cellules intestinales.

Rappelons que, pour LIEBMANN (1942), le rôle essentiel des cellules chloragènes est nutritif, et ces cellules, devenues libres et appelées éléocytes, servent au transport des graisses. Les éléocytes sont retrouvés dans la corde nerveuse, les testicules, les ovaires. Ils pénétreraient même dans les ovaires servant à la croissance des œufs. De plus, ils rempliraient le même rôle nutritif dans la régénération au moyen de la graisse absorbée. Les éléocytes peuvent même, dans la cavité coelomique, constituer des amas formant un tissu ressemblant au corps gras.

7° *Le glycogène.*

Il est, depuis peu, possible de mettre en évidence le glycogène au microscope électronique (REVEL et coll., 1960). La présence de granulations de glycogène est constatée, aussi bien avec les fixateurs à base d'acide osmique qu'avec le permanganate. La quantité de glycogène est variable mais, comme le nombre et la taille des chloragosomes, constante dans toutes les cellules d'un même animal. Dans 6 Vers sur 24, il n'a pas été possible d'en voir au microscope électronique si ce n'est à l'état de traces. Les particules sont constituées par la réunion de fins granules denses, associés en rosette de 600 à 700 Å. Ces rosettes sont distribuées dans tout le cytoplasme, sauf dans la zone de Golgi qui n'en contient jamais. Chez certains Vers, la quantité de ces particules est telle que le cytoplasme en est bourré, laissant seulement des enclaves occupées par les vacuoles lipidiques. La concentration maxima est réalisée dans les territoires des cellules chloragènes situées en bordure du vaisseau ou dans la région s'étendant au-dessous du noyau. Les particules peuvent y être contiguës; dans le cytoplasme supranucléaire, les particules sont moins nombreuses.

La présence de glycogène dans ces cellules avait déjà été signalée en 1898 par CUÉNOT, au moyen des tests à l'iode. HERTLING, en 1923, confirma ces résultats par la réaction au carmin de Best. HERLANT-MEEWIS, en 1951, a décrit une forte augmentation de glycogène au moment où *Aeolosoma emprichi* s'enkyste. SEMAL VAN GANSEN retrouve, en 1956, du glycogène chez deux Oligochètes. Après un jeûne de 5 semaines sur papier filtre imprégné d'eau, il ne peut retrouver de différences histochimiques avec des Vers bien nourris. Par contre, les coupes montrent une absence de glycogène dans les cellules intestinales. SEMAL VAN GANSEN montre que de plus ces cellules sont riches en phosphatase acide, les cellules intestinales en étant dépourvues.

DURCHON et coll. (1951) montrent que la richesse en glycogène, chez les Annélides, est en relation avec la sédentarité et la résistance à l'asphyxie. On comprend donc, d'après le mode de vie de l'Arénicole, la quantité importante de glycogène trouvée dans les cellules chloragènes.

8° *La ferritine.*

Lorsqu'on colore à la réaction de Perls une coupe de tissu chloragène, on peut voir parfois des quantités de très fins granules bleus dans les cellules chloragogènes. Cela a été observé également par ROMIEU (1923) dans les cellules du corps cardiaque. Chez certains Vers comme la Térébelle, c'est même une réaction constante et la quantité de fer ainsi montrée est importante.

Chez l'Arénicole, l'observation dans les cellules chloragogènes de la présence simultanée d'hémoglobine et de fer avait déjà été faite au microscope optique (GABE, communication personnelle, 1961). On sait que la ferritine peut être facilement caractérisée au microscope électronique. La molécule possède, en effet, 23 % de fer à l'état de phosphate d'hydroxyde ferrique, réparti sous forme micellaire en 6 amas situés aux sommets d'un octaèdre à l'intérieur de la molécule d'apoferritine. Il est ainsi aisé de caractériser une seule molécule et il n'est pas étonnant que l'on trouve au microscope électronique des amas de ferritine ou de la ferritine à l'état dispersé, qui avaient échappé totalement à l'observation optique après réaction de Perls.

Dans les cellules chloragogènes, la ferritine se présente en amas de molécules constituant des granulations rondes de 0,15 à 1 micron de diamètre. On trouve très souvent des amas d'une vingtaine de molécules d'hémoglobine (1).

Les cristaux d'hémoglobine sont parfois flanqués, de chaque côté, d'amas de molécules de ferritine. Enfin, au sein même des cristaux, entre les molécules d'hémoglobine non encore alignées, on peut trouver des molécules libres de ferritine.

Pour reconnaître la structure caractéristique de la ferritine, il est nécessaire de prendre des plaques à un grossissement de 40 000, avec un microscope électronique dont le pouvoir de résolution est au moins 12 Å, car les amas de micelles sont séparés de 15 Å.

La molécule de ferritine d'Arénicole a le même diamètre que celui de la ferritine humaine ou des Mammifères. On ne voit, en fait, que la partie ferrique de la molécule qui mesure 50 Å, la molécule entière mesurant 100 Å environ (FARRANT, 1956; KERR et MUIR, 1960; BESSIS et BRETON-GORIUS, 1960) (pl. XVII).

Mais il n'est pas toujours possible de mettre en évidence de la ferritine dans tous les Vers examinés. Voici comment on peut l'expliquer : si l'on admet que cette ferritine sert à la fabrication de l'hémoglobine, la ferritine que l'on voit représente une réserve provisoire comme

(1) Dans un cas (Arénicole n° 132), le microscope électronique a révélé qu'en plus d'amas multiples de ferritine il existait de nombreuses molécules de ferritine libres, dispersées dans le cytoplasme. Une quantité importante était mêlée aussi aux vacuoles d'hémoglobine. Nous n'avons rencontré qu'un seul cas sur 154 animaux examinés et on peut se demander s'il ne s'agissait pas d'un animal ayant eu particulièrement à souffrir des conditions du voyage.

celle que l'on voit dans les sidéroblastes des Mammifères (BESSIS et BRETON-GORIUS, 1957).

Nous avons constaté la présence de ferritine chez 21 Vers sur 68 examinés de ce point de vue. Cette ferritine sert-elle à la fabrication de l'hémoglobine ou provient-elle d'un catabolisme du pigment ? Le fait que cette ferritine se trouve en petits granules et non pas en masses importantes porte à penser que ces molécules ferriques servent plutôt à l'édification du pigment. En effet, dans les néphridies, on trouve aussi de l'hémoglobine, mais une quantité beaucoup plus importante de fer. Ce fer constitue des amas irréguliers de plusieurs microns rappelant les dépôts d'hémosidérine. On peut, à titre d'hypothèse, suggérer que, dans le cas de la néphridie, il s'agit d'une destruction de pigment.

Il ne semble pas qu'il existe chez l'Arénicole une cellule nourricière analogue à celle décrite chez certains Vertébrés (BESSIS et BRETON-GORIUS, 1959), qui transmet aux érythroblastes, entre autres substances, de la ferritine par rhophéocytose. Il n'est pas possible non plus de mettre en évidence des phénomènes de rhophéocytose. La cellule chloragogène étant en contact étroit avec le vaisseau sanguin, on peut imaginer que le fer et les éléments nécessaires à la formation de l'hémoglobine arrivent par cette voie. La ferritine ne se trouve pas dans le sang de l'Arénicole. La technique de Brenner appliquée au sang ne montre qu'un seul constituant : l'hémoglobine. D'autre part, il ne semble pas que chez ces Invertébrés il existe une protéine sanguine supportant le fer, analogue à la sidérophiline. Les électrophorèses pratiquées par ROCHE et coll. (résultats non encore publiés) montrent l'absence d'autres protéines.

9° *L'hémoglobine des cellules chloragènes.*

Nous avons caractérisé l'hémoglobine au microscope optique, par la coloration au Cyanol (DUNN, 1946) et par l'examen des coupes non colorées dans la longueur d'onde 4 140 Å (bande de SORET) obtenue par interposition d'un filtre interférentiel (NOMARSKI et BESSIS, 1959). Au microscope électronique, la molécule se reconnaît, nous l'avons vu, par sa forme hexagonale, vue de face (pl. X, fig. 1, et pl. XI), et son aspect en X vue de profil (pl. XII, fig. 1).

On trouve de l'hémoglobine située dans des vacuoles au bord sinueux, dans de grosses vacuoles limitées par une membrane, sous forme de cristaux, et on trouve enfin des molécules libres dispersées dans le cytoplasme. On peut en trouver aussi dans les sacs de l'appareil de Golgi. Cette localisation sera décrite dans le prochain chapitre.

Avant de passer en revue ces diverses localisations, nous indiquerons (tableau II) les caractéristiques des cellules chloragènes ne renfermant pas d'hémoglobine décelable au microscope électronique.

TABLEAU II

N° ANIMAUX SANS HÉMOGLOBINE CELLULAIRE	SAISON	TAILLE	COULEUR TÉGUMENTS	PRÉSENCE FER	PRÉSENCE GLYCOGÈNE	PRÉSENCE LIPIDES	PRÉSENCE CHLORAGO- SOMES
85.	Septembre.	12 cm.	Roses.	—	+	+++++	—
89.	Mi-octobre.	12 cm.	Noirs.	++	—	—	++
135.	Fin janvier.	15 cm.	Noirs.	—	+	++	++
137.	Début mars.	20 cm.	Noirs.	—	+	++	++
154.	Mai.	20 cm.	Rose noirâtre.	+	+	—	++

TABLEAU III

N° ANIMAUX	DOSAGE Hb EN GRAMME PAR LITRE	PRÉSENCE DE VACUOLES Hb DANS CELLULES CHLORAGOGÈNES		PRÉSENCE DE CRISTAUX DANS CELLULES CHLORAGOGÈNES	COULEURS TÉGUMENTS	PRÉSENCE FER
		GROSSES	PETITES			
142.	8,30	++		++	Noirs.	+
143.	9,75	+++			Bronze.	—
144.	5,50	+++++			Bronze clair.	—
145.	8,80	++++			Roses.	—
146.	8,30	++++	++		Noirs.	—
147.	9,75				Bronze.	—
148.	5,50			++	Bronze.	—
149.	8	+++	++		Roses.	—
150.	9		++		Roses.	—
151.	11		+		Roses.	—
152.	9	+++		+	Bronze.	—
153.	6,5	—	+++		Bronze.	—
154.	8,4		—	—	Noirs.	+

La fréquence des animaux ne possédant pas d'hémoglobine dans leur tissu chloragogène est d'environ 10 % (5 Vers sur 50). Il ne semble pas y avoir de rapport avec la saison. Nous n'avons jamais trouvé d'animaux de taille inférieure à 12 cm, qui ne possédaient pas d'hémoglobine intracellulaire (25 animaux, dont la taille variait de 5 à 10 cm).

Les Vers ne possédant pas de vacuoles d'hémoglobine ont de nombreux chloragosomes. D'autre part, le dosage d'hémoglobine pratiqué chez des Vers dont la taille est suffisante pour recueillir assez de sang, a donné les résultats suivants (tableau III).

On remarque que les quantités d'hémoglobine trouvées dans le sang varient beaucoup. Nous avons fait très attention, en ponctionnant le vaisseau, d'assécher par du papier filtre sa surface et de pratiquer une seule ponction pour éviter toute dilution de l'hémoglobine par du liquide coelomique, le sang monte spontanément dans la pipette; les chiffres trouvés varient de 5,5 à 11 grammes pour cent.

BARCROFT, en 1924, avait déjà signalé que la concentration d'hémoglobine variait beaucoup et que le volume du sang lui-même changeait, la capacité de fixation de l'oxygène étant plus ou moins constante, de l'ordre de $0,01 \text{ cm}^3 \text{ d'O}_2$ par gramme de Ver.

Fox (1955), étudiant les effets de l' O_2 sur la concentration de l'hème, a remarqué que l'Arénicole ne synthétise pas davantage d'hémoglobine dans de l'eau pauvrement aérée.

Au microscope optique, on reconnaît aisément les vacuoles d'hémoglobine lorsqu'elles sont suffisamment grosses. Avec le cyanol, elles sont colorées en bleu pâle; après coloration de Dominici, elles apparaissent en rose vif, de même à l'hématoxyline-fuchsine safran. Au trichrome vert, elles sont vertes ou rouges selon l'épaisseur de la coupe. Les cristaux apparaissent comme des prismes ou des aiguilles distendant parfois une vacuole, elle-même colorée par les colorants de l'hémoglobine.

On peut se poser la question suivante : comment se fait-il que la présence de vacuoles aussi grosses, contenant de l'hémoglobine, ait échappé aux auteurs anciens ? Cela est probablement dû au manque de réactions spécifiques de l'hémoglobine, car voici ce que dit ROMIEU (1923) à propos des cellules du corps cardiaque d'*Amphitrite* (analogues aux cellules chloragènes) :

« A côté des granulations brunes, j'ai constaté la présence de cristaux incolores fusiformes, parallélipipédiques ou rhombiques, qui sont éosinophiles et safranophiles. Le noyau des cellules est riche en chromatine, mais clair. Dans certaines cellules, la chromatine prend une apparence cristallisée et des formes semblables aux cristaux que je viens de signaler. » Pour ROMIEU, il s'agissait de cristaux d'acide urique.

On est frappé, dans cette description, par l'analogie entre les vacuoles et les cristaux d'hémoglobine des cellules chloragènes. Quant au noyau à chromatine cristalline, il s'agit vraisemblablement de vacuoles d'hémoglobine dont la taille atteint celle d'un noyau et où une cristallisation intervient.

Chez le Lombric, WILLEM et MINNE, en 1899, signalent le fait suivant : « dans certaines cellules du recouvrement péritonéal, on observe des agglomérats de cristaux prismatiques. On peut trouver une grande vacuole bourrée de cristaux. » CERFONTAINE (1890) considérait ces corpuscules comme étant des bacilles.

Toutefois, en 1939, BLOCH RAPHAËL trouve de l'hémoglobine (caractérisée par la réaction à la benzidine) dans des cellules de différents Annélides polychètes, dans des localisations très variées suivant les familles, mais toujours constantes pour une race donnée. Elle n'a pas étudié les *Arenicolidae*, mais signale chez les Térébelles des inclusions d'hémoglobine toujours à l'intérieur de vacuoles. Chez les *Capitellidae*, dans les cellules conjonctives de l'organe de Whimper, elle observe des inclusions d'hémoglobine sous forme de cristaux : « chez *Glycera convoluta*, dans un massif glandulaire de la trompe, les cellules contiennent en quantité *variable* des granulations jaunes. Quelquefois, l'hémoglobine est en cristaux. » BLOCH RAPHAËL pense qu'il existe une relation entre vacuome et présence d'hémoglobine, car la coloration au rouge neutre donne la même localisation que l'hémoglobine.

1° Les vacuoles d'hémoglobine. — Leur taille varie beaucoup ainsi que la concentration des molécules d'hémoglobine. Tous les intermédiaires peuvent être trouvés entre des vésicules de 0,5 micron, situées autour de la zone de Golgi et les vacuoles de 4 microns.

Aux alentours de la zone de Golgi, il est possible de rencontrer des vacuoles à membrane continue épaisse (100 à 150 Å), souvent de forme ellipsoïdale et dont la taille atteint 1 micron de large et 2 microns de long. L'intérieur de la vacuole est très clair et on peut très bien distinguer, de place en place, quelques masses de molécules d'hémoglobine. De petites vacuoles de 1 300 Å environ de diamètre, légèrement osmiophiles, entourent la vacuole. Ces vacuoles présentent parfois une seconde membrane interne.

La concentration des molécules d'hémoglobine peut être plus ou moins importante (pl. VII). La membrane est parfois interrompue en plusieurs endroits; au point de rupture, elle s'enroule en hélice et communique avec une dizaine de vacuoles osmiophiles de 0,1 micron. Des vacuoles de 3 microns de large et 2 microns de haut peuvent aussi occuper l'apex de la cellule. Les molécules d'hémoglobine y sont très diluées.

A côté de ces vacuoles minuscules, existent de grosses vacuoles, de 3 ou 4 microns de diamètre, sphériques, et dont la concentration en molécules d'hémoglobine est très grande. Il est fréquent d'y observer, en un ou plusieurs points, un alignement de molécules marquant le début d'une cristallisation.

A ce stade, il arrive très souvent que la membrane de la vacuole se rompe, laissant échapper dans le cytoplasme les molécules non emprisonnées dans les cristaux.

Parfois, on peut trouver dans ces grandes vacuoles des plages non hémoglobiniques, constituées par un matériel osmiophile plus ou moins granulaire arrangé en une sorte de réseau, de nature inconnue.

2° *Les cristaux d'hémoglobine.* — Comme nous venons de le voir plus haut, la cristallisation débute dans la vacuole lorsque est atteinte

la concentration maxima de molécules (pl. VIII). Le cristal augmente à partir de son point initial de cristallisation pour occuper toute la vacuole et parfois la distendre, constituant des aiguilles, des rhomboédres, ou des cubes.

On trouve également des cristaux de différentes formes, libres dans le cytoplasme, sans aucune membrane. Lorsque le cristal est coupé selon une certaine

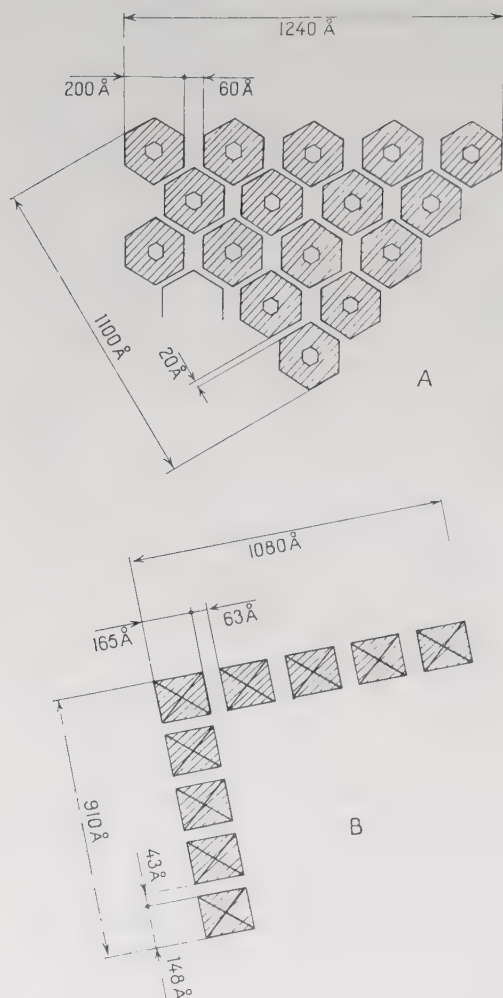


FIG. 3. — Schéma des coupes de cristaux sous différentes incidences.

A. — Molécules d'hémoglobine vues de face.

Les molécules, dont la forme est hexagonale, présentent un espace clair central. Elles sont espacées de 60 Å dans une direction et de 20 Å dans l'autre direction.

B. — Molécules d'hémoglobine vues de profil.

L'alignement des sous-unités de la molécule réalise une image ressemblant à la lettre X.

incidence, les molécules vues de face se reconnaissent à leur forme hexagonale, présentant, au centre, un espace clair (pl. X, fig. 2).

Il n'est pas possible de reconnaître sur coupe les sous-unités constituant la molécule, révélées par la coloration négative. Les molécules mesurent environ 200 Å; elles sont espacées de 60 Å les unes des autres dans une direction et de 20 Å dans l'autre direction (fig. 3).

Dans l'alignement des molécules, on peut remarquer parfois que

certaines places sont vides. Les molécules ont pu accidentellement être arrachées au cours des différentes manipulations (pl. IX). Dans un cristal parfait, on peut aussi voir des dislocations partielles; les coupes en série de ce même cristal montrent que le phénomène ne concerne que quelques rangées de molécules, au sein du cristal.

Lorsque le cristal est coupé selon le plan qui intéresse le profil des molécules, celles-ci se présentent comme la lettre X (pl. XII, fig. 2).

Remarquons que, suivant le plan de coupe, les images données par les cristaux varient beaucoup, comme l'avaient déjà observé ROCHE et coll. (1961) sur des cristaux provenant de sang d'Arénicole.

Sur des coupes très minces, et dans des plans privilégiés, on peut reconnaître que les bandes sombres sont constituées de grains très denses, de 50 Å environ de diamètre. Ces grains représentent probablement les sous-unités de la molécule.

3° *Les molécules d'hémoglobine dispersées.* — En dehors des vésicules, des vacuoles et des cristaux, l'hémoglobine se trouve encore à l'état dispersé dans le cytoplasme.

Certaines cellules en sont bourrées, les molécules d'hémoglobine étant repoussées seulement par des particules de glycogène, quelques vésicules et des chloragosomes. A ce stade, on peut évoquer une certaine ressemblance de ces cellules bourrées d'hémoglobine avec les érythroblastes des Vertébrés.

On peut supposer que les grandes vacuoles proviennent de la fusion de plus petites, comme on le voit souvent dans des phénomènes de sécrétion, par exemple dans la formation de l'acrosome de la spermatide qui débute également par l'apparition de petites vacuoles (FAVARD, 1961).

C. — LA CELLULE BASOPHILE

Au microscope optique, sur des coupes de tissu chloragogène colorées au Dominici, on remarque des cellules différentes des cellules chloragogènes. Leur noyau, plus petit, est ovale, très sombre et homogène, leur cytoplasme mince s'insinue entre les cellules chloragogènes jusqu'au vaisseau central. Près de l'extrémité du cæcum, on les trouve en groupes. Leur cytoplasme est très basophile.

Au microscope électronique, à faible grossissement, il est facile de les reconnaître par leur aspect sombre contrastant avec celui des cellules chloragogènes, et par leurs tentacules cytoplasmiques ramifiés jusqu'au vaisseau, s'insinuant entre les cellules chloragogènes. Coupée selon certains plans, cette cellule montre un aspect étoilé, le noyau

occupant le centre de l'étoile. L'extrémité très effilée du cytoplasme s'étend très loin et les membranes cytoplasmiques sont étroitement accolées à celles des cellules chloragènes.

On constate souvent que ces extrémités minces correspondent au bras d'une autre cellule du même type; ces cellules constituent donc un véritable réseau.

Au fort grossissement, on constate que le cytoplasme est caractérisé par l'abondance d'ergastoplasme dont les sacs sont parallèles au grand axe de la cellule; de plus, il existe de nombreux ribosomes dispersés. Avec fixation au permanganate, on retrouve le réticulum endoplasmique aux sacs très aplatis qui épousent les sinuosités du noyau et des bras cytoplasmiques; les ribosomes ne peuvent être vus avec cette fixation.

Les mitochondries sont en général très petites et nombreuses, souvent de forme allongée. Il arrive qu'elles soient groupées par paquet d'une vingtaine dans la partie cytoplasmique sous-nucléaire, en rapport avec le bord du vaisseau sanguin. Leurs crêtes sont nombreuses.

Dans les ramifications très minces du cytoplasme, il est possible de trouver des chloragosomes de petite taille lorsque les cellules chloragènes en contiennent. Ils ont la même structure que dans celles-ci. Des enclaves lipidiques de plus petite taille que celle des cellules chloragènes sont aussi présentes dans ces cellules à certains stades.

Les vacuoles d'hémoglobine sont petites et rares; on ne peut en déceler que dans des cellules dont l'aspect est intermédiaire entre la cellule basophile et la cellule chloragène. Cette cellule a un cytoplasme allongé mais sans ramifications. Le noyau, oblong, est plus gros, et le corps de Golgi est du type sécréteur avec de nombreuses vésicules golgiennes remplies d'hémoglobine. On peut aussi constater la présence de glycogène dans certaines cellules chloragènes. Ces cellules basophiles présentent donc beaucoup de caractères communs avec les cellules chloragènes. Elles ont les mêmes constituants cytoplasmiques, mis à part les cristaux d'hémoglobine, mais elles présentent une basophilie très importante (pl. XIX).

WILLEM qui, en 1899, a observé également ces cellules à l'extrême pointe des cæcums, pense qu'elles représentent les cellules indifférenciées. Nos observations au microscope électronique semblent confirmer cette hypothèse.

Cette cellule basophile représenterait la cellule souche des cellules chloragènes. Il est probable aussi que l'allongement des cæcums se fasse aux dépens de ces cellules, car elles se trouvent en général aux extrémités des petits vaisseaux.

D. — LES CONTACTS

CELLULE CHLORAGOGÈNE - VAISSEAUX

Les capillaires sanguins sont limités par une membrane basale constituée par un enchevêtrement de fibrilles dont l'épaisseur varie, mais qui est toujours d'au moins 1 micron. Entre ces fibrilles, on trouve des molécules d'hémoglobine. Les limites de ces capillaires sont marquées par la membrane continue de la cellule chloragogène. Il n'a pas été possible de voir des phénomènes de micropinocytose ou de rhophéocytose de la cellule chloragogène, pas plus que de rejet dans le sang de contenu vacuolaire.

La membrane cytoplasmique de la cellule chloragogène est en général rectiligne. Dans les capillaires de plus grande taille, la couche fibrillaire est plus importante et décrit des anses multiples sur lesquelles se moulent les cellules chloragogènes; leur membrane décrit parfois quelques sinuosités qui augmentent la surface de contact entre cellule et capillaire.

Le vaisseau ventral possède, en outre, une couche de cellules que HAMA (1960) a nommées myoendothéliales chez les Oligochètes. Ces cellules ont un noyau à mottes de chromatine bien individualisées. Leur cytoplasme contient des rosettes de particules d'A. R. N., des mitochondries rondes, très petites, et des fibres dispersées parallèlement à la surface du vaisseau. Les membranes cytoplasmiques s'appliquent étroitement sur celles de la cellule chloragogène et décrivent, en contact avec le vaisseau, de nombreuses sinuosités.

De petites vacuoles de 0,05 micron à 0,1 micron, contenant un précipité noir central, sont alignées comme les perles d'un collier.

On peut parfois trouver dans ces cellules de petites vésicules contenant de l'hémoglobine. De même, dans les espaces intracellulaires entre cellules chloragogènes basophiles et cellules myoendothéliales, on trouve fréquemment des molécules libres d'hémoglobine.

CHAPITRE IV

L'APPAREIL DE GOLGI ET SON RÔLE DANS LA SÉCRÉTION DE L'HÉMOGLOBINE

A. — DIFFÉRENTS STADES D'ÉVOLUTION DE L'APPAREIL DE GOLGI

Lorsqu'on examine au microscope électronique des coupes transversales de cæcums vasculaires passant par la zone de Golgi, on remarque que cet organite se trouve toujours situé dans la même portion de la cellule. Sa structure varie beaucoup d'un animal à l'autre, mais elle est presque identique pour toutes les cellules d'un même animal, ce qui évoque l'existence d'un cycle d'activité. Nos observations nous permettent de décrire six aspects différents de l'appareil de Golgi.

Premier type. — Ce type n'est reconnu qu'à cause de la présence des centrioles qui, dans les cellules chloragènes, se trouvent toujours au centre des corps de Golgi, en général dans la région apicale de la cellule, près de la membrane cytoplasmique du côté du cœlome. Une zone claire les entoure, et autour de cette zone, on remarque une condensation de matériel osmiophile amorphe, dans lequel on peut parfois reconnaître de petites vésicules claires à parois osmiophiles de 400 Å de diamètre. Cette zone occupe environ un micron dans la cellule (pl. XIII, fig. 1 et 2).

Deuxième type. — Il s'agit d'un aspect assez fréquent de la zone de Golgi: autour de la zone centriolaire, se trouve un amas de vésicules claires dont la taille varie de 200 Å à 1 000 Å. Aucun matériel ne peut être mis en évidence à l'intérieur de ces vésicules. On ne voit pas de substance osmiophile amorphe entre les vésicules. Les cellules d'un même animal peuvent présenter des corps de Golgi de ces deux premiers types.

Troisième type. — Des canalicules très fins entourent les centrioles situés à l'apex de la cellule. Chacun de ces canalicules est limité par une membrane dense aux électrons, de 50 Å d'épaisseur environ, alors que l'espace clair central se réduit à une fente de 100 Å environ. Les canalicules sont en général au nombre de 3 à 5, espacés de 100 Å à 200 Å. L'ensemble, y compris la zone centriolaire, occupe environ 0,8 micron de diamètre. Il existe en outre des vésicules de 200 à 1 000 Å parsemées autour de cette zone. Ces vésicules contiennent un matériel amorphe peu dense aux électrons. D'autres, apparemment identiques, se retrouvent très loin, dans tout le cytoplasme. Chez les animaux présentant des Golgi de ce type, on peut aussi trouver des cellules avec un Golgi du deuxième type.

Quatrième type. — Située près du noyau, la zone de Golgi occupe en moyenne 2 microns. Autour du centriole, sont groupés des canalicules dont certains montrent une lumière claire comme dans le type précédent. Certains sont renflés sur toute leur longueur et contiennent un matériel dense, formant des anneaux sombres, empilés perpendiculairement à l'axe du canalicule. Celui-ci a un diamètre de 800 Å, les bandes sombres ont une épaisseur de 120 Å et sont espacées de 200 Å. On trouve encore de nombreuses vésicules claires de 300 à 400 Å de diamètre.

Cinquième type. — La zone de Golgi est tout à fait appliquée contre le noyau. Son diamètre varie de 1 à 2 microns. Elle est constituée de canalicules, de saccules et de petites vésicules claires. Souvent cette structure se complique par le renflement terminal d'un de ces saccules qui atteint 1 000 Å de diamètre et contient des granules denses plus ou moins alignés.

Appliquées contre la paroi interne de la zone, d'autres vésicules allongées sont remplies des mêmes granules. Dans un certain nombre de granules, on peut observer une structure non homogène. Leur taille varie de 140 à 200 Å. Des vésicules libres de 1 700 Å sont également remplies de ces mêmes granules. De petites vésicules grises de 500 Å, en contact avec les saccules dilatés, sont aussi en contiguïté avec quelques sacs ergastoplasmiques revêtus de ribosomes.

D'autres vacuoles plus grandes, de 2 000 Å, dont la périphérie est légèrement osmiophile, mais dont le centre est clair, sont réparties un peu partout dans le cytoplasme.

Sixième type. — Ce stade est marqué par un développement maximal de la zone de Golgi qui peut atteindre, dans la cellule, jusqu'à 3 microns de diamètre. La zone de Golgi est constituée par des piles de saccules rangées concentriquement et par un certain nombre de vésicules de 0,15 à 0,25 micron.

Dans certains cas favorables (pl. XIV), quand l'incidence de la

TABLEAU IV

N° ARÉNICOLE	NOYAU	GOLGI	VACUOLES D'HÉMO- GLOBINE	CRISTAUX	FER	CHLORA- GOSOMES	COULEUR DU TISSU CHLORA- GOGÈNE	GLYCO- GÈNE	GRAISSE
98.	Mottes.	Zone près du noyau. Prédominance de vacuoles. Quelques canalicules.	++	++	—	Rares et petits.	Bronze clair.	++	+++
102.	Homogène. Mottes peu marquées.	Zone étendue loin du noyau. Sécrétion d'hémoglobine dans vacuoles golgiennes.	++	+++	+ dans la zone de Golgi et près des cristaux.	Rares et petits.	Bronze clair.	++	+
104.	Homogène.	Zone près du noyau. Sécrétion d'hémoglobine dans vacuoles golgiennes.	+++	++ dans vacuoles.	—	+++	Noir.	—	(+)
117.	Homogène.	Petite zone. Matériel golgien. Pas de canalicules.	+ Petites, rares.	Rares.	—	+++	Noir.	—	—
132.	Mottes marquées.	Canalicules. Petites vésicules.	+ Petites.	Petits dans vacuoles.	++	Rares et petits.	Bronze clair.	++	++
135.	Mottes.	Pas ou peu de canalicules. Matériel golgien.	—	—	—	+++ (grosses masses composites).	Bronze.	++	+++
137.	Mottes.	Pas de canalicules. Vésicules claires.	—	—	—	++ (masses composites).	Noir.	++	++
141.	Homogène.	Petite zone. Canalicules.	+ (Rares sans membranes.)	(+) Petits, rares.	+	+++	Noir.	++	++

coupe correspond à l'axe d'un saccule, on peut voir que les vacuoles sont renflées à leur extrémité en une ampoule allongée de 800 Å de large sur 1 900 Å de long. Cette ampoule terminale contient 2 à 10 rangées de 3 ou 4 granules alignés. Observés à fort grossissement (pl. XV, fig. 1), on remarque que ces granules présentent souvent la structure caractéristique en forme de lettre X majuscule.

La taille de ces granules, mesurée dans leur plus grande largeur, est de 155 Å, c'est-à-dire la hauteur de l'X. Or, nous l'avons vu plus haut, lorsqu'on examine la coupe d'un cristal d'hémoglobine d'Arénicole sous une certaine incidence (« de profil »), ces molécules se présentent comme la lettre X dont les dimensions sont de 165 Å sur 148 Å (pl. XV, fig. 2). Dans l'ampoule terminale du saccule golgien représenté planche XV, figure 1, ces particules mesurent 155 Å dans une direction et 130 Å dans l'autre direction.

Ces dimensions, jointes à l'aspect des granulations, permettent de considérer comme très probable que les vésicules golgiennes contiennent des molécules d'hémoglobine. Il y a donc une différence de 6 % dans la taille de la molécule trouvée dans l'ampoule golgienne et celle du cristal; cela s'explique aisément par les erreurs dans le calcul de la détermination de l'agrandissement réel.

Autour de la zone de Golgi proprement dite, on peut aussi mettre en évidence des vacuoles plus grandes, de 1 000 à 2 000 Å de diamètre, contenant les mêmes molécules. Selon l'incidence de la coupe, on peut parfois les reconnaître à leur structure hexagonale, ou cubique (pl. XVI, fig. 1). Dans d'autres zones, de même type, on peut observer, à l'extrémité d'un des saccules, des chapelets de vésicules encore rattachés au saccule et contenant des molécules d'hémoglobine tassées les unes contre les autres (trois vésicules de ce type sont montrées pl. XVI, fig. 2).

Enfin, il est des cas où, à l'intérieur des canalicules non encore dilatés, il est possible de reconnaître des granules structurés dont l'aspect et les dimensions rappellent ceux des molécules d'hémoglobine.

Le tableau IV résume différents stades d'évolution.

Rapport de l'appareil de Golgi et des mitochondries. — Il est assez fréquent de constater que des mitochondries encadrent la zone de Golgi, surtout lorsque celle-ci se trouve près du noyau.

On a souvent fait des remarques analogues dans d'autres cas, et pensé que les mitochondries jouaient dans cette sécrétion le rôle de fournisseur d'énergie (FAVARD, 1961 : sécrétion du bâtonnet des spermatozoïdes d'ascaris, DALTON, 1956).

B. — DISCUSSION

SUR LE ROLE HÉMOGLOBINO-SÉCRÉTEUR DE L'APPAREIL DE GOLGI

Nous avons vu qu'il existe des molécules d'hémoglobine (au stade d'évolution type 6 de l'appareil de Golgi) dans les vésicules golgiennes. Ces vésicules semblent fusionner pour donner les grandes vacuoles dans lesquelles l'hémoglobine finit par cristalliser (fig. 4).

Toutefois, il faut bien insister sur le fait que nos observations ne portent que sur des images statiques et que la sécrétion, ou tout au moins la synthèse des derniers stades de la molécule d'hémoglobine par le corps de Golgi, n'est encore pour le moment qu'une hypothèse. Nous allons donner ci-dessous quelques exemples récents, concernant des travaux sur la sécrétion du corps de Golgi qui peuvent fournir quelques éléments de comparaison avec les images que nous avons décrites.

HAY (1958), étudiant la régénération d'un membre de Salamandre, constate que dans les cellules cartilagineuses indifférenciées, l'appareil de Golgi est représenté par des agrégats de petites vésicules. Les canalicules, qui sont constants dans les cellules différenciées, n'ont jamais été observés dans les cellules jeunes. Cette observation apporte un argument en faveur du fait que les types 1 et 2 décrits sont effectivement antérieurs aux autres types.

FERREIRA (1957), dans la cellule endocrine du pancréas d'embryon de Rat, fait des constatations analogues. Il remarque d'abord la présence de petites vésicules de 200 à 400 Å de diamètre, limitées par une membrane lisse de 60 Å, qui s'allongent ensuite en canalicules, puis les grains de zymogène apparaissent. Il semble que les canalicules marquent l'apparition de la fonction sécrétoire (FAWCETT, 1959). Toutefois, cela ne saurait être vrai pour toutes les cellules. Certaines cellules n'ont jamais de Golgi à système lamellaire. Ainsi, les cellules gastriques ont seulement de nombreuses vésicules (SEDAR, 1955) qui ont été considérées par PALADE comme étant une variété lisse de réticulum endoplasmique sans A. R. N. Il est à remarquer qu'on ne trouve pas de réticulum à grain d'A. R. N., mais seulement des ribosomes libres. On peut supposer que la sécrétion d'HCl ou d'un précurseur peut se faire dans les vésicules lisses du réticulum, à moins qu'on ne les considère comme l'équivalent, dans leur fonction, de l'appareil de Golgi.

Si on injecte un produit stimulant la sécrétion dans une glande, par exemple un œstrogène (NILSSON, 1959) agissant sur l'épithélium utérin de la Souris, on constate que les saccules s'allongent et que le nombre des vésicules augmente. Le même phénomène se produit après injection de thyroostimuline dans la thyroïde (HERMANN, 1960).

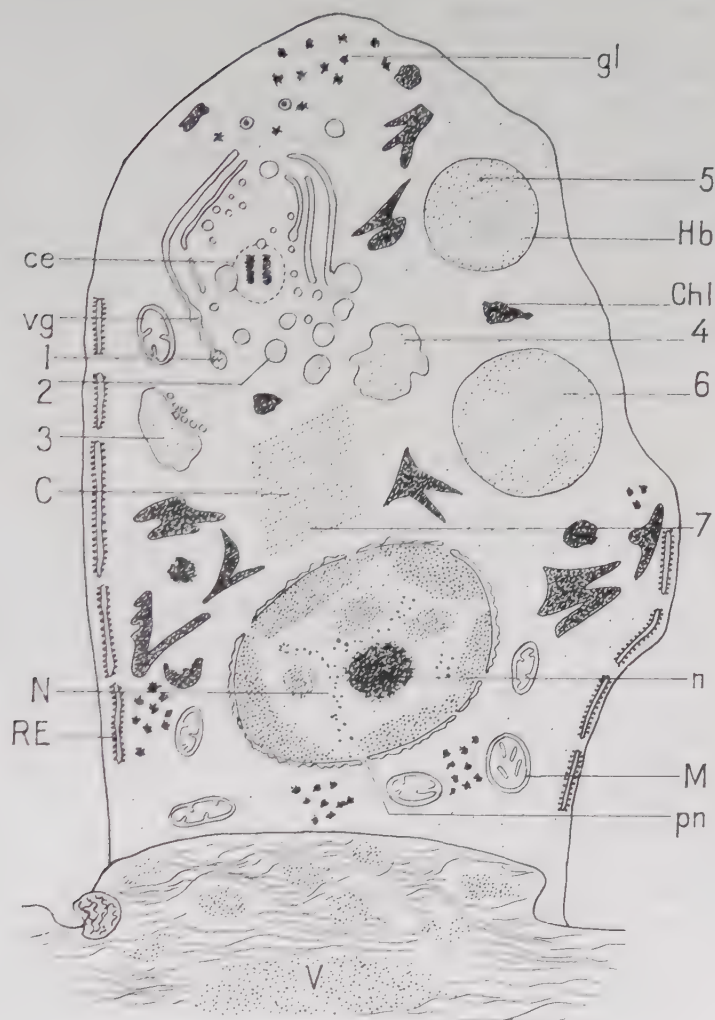


Fig. 4. — Schéma d'une cellule chloragogène dont l'appareil de Golgi correspond au type n° 6. L'appareil de Golgi se situe presque à l'apex de la cellule et renferme en son milieu le centriole (ce). La formation des cristaux se ferait de la manière suivante :

Les vésicules golgiennes (vg) provenant de la dilatation terminale des canalicules (1) donnent en se détachant de petites vacuoles (2) remplies de molécules d'hémoglobine. Ces vacuoles grossissent en confluant pour donner la vacuole (3). Dans les vacuoles (5 et 6), la concentration d'hémoglobine augmente et un début de cristallisation apparu en (5) se poursuit en (6) pour aboutir au cristal (C).

On peut encore remarquer dans cette cellule, de bas en haut : le vaisseau (V), le noyau (N), les pores nucléaires (pn), le nucléole (n). Quelques mitochondries (M) entourent le noyau, des sacs de réticulum endoplasmique (RE), quelques chloragosomes (Chl), des particules de glycogène (gl) et des enclaves lipidiques occupent le reste du cytoplasme.

Dans les cellules chloragogènes, on peut, à la lumière de ces faits, considérer que les types 1 et 2 représentent des stades primitifs de l'appareil de Golgi, comportant seulement un matériel amorphe et des petites vésicules claires qui, dans le type 3, s'organisent en canalicules. Ces canalicules donnent ensuite dans les types suivants, par dilatation terminale, une ampoule qui se détache pour constituer une vacuole d'hémoglobine.

On a d'ailleurs décrit fréquemment des modes analogues de formation de granules de sécrétion: glandes sébacées, thyroïde, cellules acidophiles du lobe antérieur de l'hypophyse, glande mammaire, cellules β du pancréas endocrine, cellules neuro-sécrétrices, etc. (cf. la revue générale de PALAY, 1958).

Les travaux récents de CARO (1961) et CARO et PALADE (1961) sont importants à ce sujet; par autoradiographie, en microscopie électronique, ils ont montré, dans les cellules pancréatiques du cobaye, qu'après incorporation de leucine 3H les grains autoradiographiques se trouvent dans l'ergastoplasme, puisque 70 % des grains sont localisés dans les vacuoles de Golgi, et enfin, que 4 heures plus tard, ce sont les granules de zymogène qui sont marqués. Cette expérience confirme les travaux antérieurs qui laissaient soupçonner un cycle de ce genre. Déjà en 1939, HIRSH, se fondant sur la localisation des grains de zymogène, supposait que ceux-ci étaient produits par l'appareil de Golgi de la cellule exocrine. SJÖSTRAND et HANZON, en 1954, confirmaient au microscope électronique cette localisation, en montrant des stades intermédiaires. Des résultats un peu contradictoires amenaient WEISS, en 1953, à penser que les grains apparaissaient dans l'ergastoplasme.

Dans la sécrétion de colloïde, des faits semblables se retrouvent. On entrevoit, à la lumière des derniers travaux, les parts respectives prises par l'ergastoplasme et l'appareil de Golgi: les protéines synthétisées dans l'ergastoplasme doivent gagner les vacuoles de l'appareil de Golgi pour y être empaquetées dans une membrane lisse et, enfin, entreposées sous forme de grains dans la cellule.

L'appareil de Golgi a été aussi impliqué dans la formation de l'acroosome des spermatozoïdes (BURGOS et FAWCETT, 1955; BEAMS et coll., 1956; et CLERMONT, 1956) par la réunion de petits granules pro-acrosomiens formés dans les saccules golgiens, dans la naissance du nématocyste de l'Hydre (SLAUTTERBACH et FAWCETT, 1959) où un phénomène identique se produit. Il en est de même dans la sécrétion lactée (BARGMANN et coll., 1959; WELLINGS et coll., 1961).

Chez les Invertébrés, il a été rapporté, par STRUNK (1959), la formation d'un cristal en association avec les lamelles de l'appareil de Golgi, et, plus récemment, SHELDON et KIMBALL (1962), ont montré l'apparition d'une macromolécule identifiée comme du collagène (par sa structure périodique) dans des vacuoles de Golgi. Cette observation a une grande analogie avec la nôtre. Il s'agit, dans les deux cas, de molécules de haut poids moléculaire constituées par la réunion de plusieurs sous-unités. Pour le collagène, la structure péri-

dique n'est visible que dans les vacuoles d'une certaine taille, il n'est pas possible, comme dans les cellules chloragogènes, de reconnaître la molécule dans les saccules golgiens ou dans leurs dilatactions.

S'il est certain que les produits de sécrétion sont trouvés en fin de chaîne enfermés dans les lamelles du Golgi, comme empaquetés, rien ne permet de dire que le Golgi est le lieu de synthèse. Des substances synthétisées ailleurs pourraient seulement s'unir et se concentrer à ce niveau. DALTON et coll. (1956) ont suggéré que le rôle de l'appareil de Golgi pourrait être la concentration des produits élaborés par l'ergastoplasme.

Ce serait aussi l'avis de PALADE (1956) pour qui l'appareil de Golgi n'est qu'une forme particulière (sans A. R. N.) de réticulum. Il a montré, dans des cas particuliers, la continuité entre ergastoplasme à A. R. N. et sacs à membranes lisses.

*
**

Il y a donc beaucoup de raisons morphologiques et analogiques de penser que la synthèse de l'hémoglobine a lieu dans les cellules chloragogènes et que l'appareil de Golgi y joue un rôle important. Cela ferait des cellules chloragogènes (en dehors de leurs autres fonctions) l'équivalent des érythroblastes des Vertébrés. Dans ceux-ci, on trouve également quelques sacs ergastoplasmiques qui, dans les stades ultérieurs, disparaissent presque complètement; le nombre des ribosomes libres va en diminuant jusqu'au stade de globule rouge mûr, tandis qu'augmente la quantité d'hémoglobine. Dans l'érythroblaste des Mammifères, existe aussi de la ferritine, et un appareil de Golgi très développé (BESSIS et BRETON-GORIUS, 1959, 1962). Toutefois, dans ce cas, il n'a pas été possible de suivre l'évolution de la zone de Golgi et la présence éventuelle d'hémoglobine, car la molécule d'hémoglobine des Mammifères est trop petite pour être vue au microscope électronique. Il est possible qu'il existe des phénomènes semblables à ceux se produisant dans la cellule chloragogène d'Arénicole. Il a été remarqué, par exemple (BESSIS, communication personnelle, 1961), que dans l'érythroblaste humain basophile, coloré au Giemsa, on pouvait parfois voir, dans le cytoplasme bleu de la cellule, une légère teinte rosée (due à l'hémoglobine) dans la zone de la centrosphère qui correspond à l'appareil de Golgi.

Les prochaines étapes de la recherche dans ce domaine semblent devoir être les suivantes : localiser, à l'aide de précurseurs marqués par les isotopes, les voies de la synthèse de l'hémoglobine; comparer celles-ci au mécanisme de maturation des érythroblastes des Mammifères.

CONCLUSIONS

I. — Les cellules chlorogagènes de l'*Arenicola marina* L. présentent un cycle évolutif; à un moment donné, toutes les cellules du tissu chloragène d'un même animal sont au même stade d'évolution.

Ces cellules sont polarisées; le noyau est situé près du vaisseau où la cellule prend son attache; il contient plusieurs nucléoles; sa membrane présente de multiples pores qui interrompent l'espace périnucléaire au niveau des zones interchromatiniennes.

Les mitochondries, souvent légèrement gonflées, sont fréquemment groupées autour du noyau et dans la zone sous-nucléaire. Leurs crêtes évoluent fréquemment en tubules.

L'ergastoplasme dans les cellules jeunes est bien développé; il diminue au fur et à mesure de la maturation cellulaire.

L'appareil de Golgi présente différents stades évolutifs. Un matériel inorganisé semble précéder l'apparition d'une accumulation de vésicules claires; puis s'individualisent des canalicules qui, en se dilatant à leurs extrémités, donnent naissance à des vésicules; celles-ci se détachent des canalicules et migrent dans le cytoplasme environnant. Les deux centrioles sont situés au centre de la zone de Golgi.

Les chloragosomes montrent des aspects composites. Des figures myéliniques, situées à leur périphérie, représentent probablement le constituant phospholipidique, mis en évidence par les colorations cytochimiques.

Des cellules basophiles, à l'extrémité des cæcums, s'insinuent entre les cellules chlorogagènes et constituent un réseau particulier. Leur cytoplasme est rempli d'ergastoplasme. Il est possible qu'elles représentent la forme jeune des cellules chlorogagènes.

II. — Le microscope électronique montre, dans ces cellules, la présence de molécules d'hémoglobine, aisément identifiables par leur forme en rosette hexagonale. Elles peuvent être dispersées dans le cytoplasme ou situées dans des vésicules et vacuoles dont la taille peut atteindre 4 microns.

Il existe, en outre, certains stades d'évolution où toutes les cellules chlorogagènes sont remplies de cristaux d'hémoglobine.

Ces cristaux, coupés selon une certaine incidence, montrent l'alignement de molécules dont la forme hexagonale et le centre clair correspondent bien à l'image que l'on obtient en examinant le sang par la méthode de coloration négative. De profil, les molécules présentent une forme rappelant celle de la lettre X. Ces molécules d'hémoglobine sont aisément reconnues à l'intérieur des canalicules et saccules dilatés de l'appareil de Golgi; ce sont les vésicules qui semblent, en fusionnant, former les grandes vacuoles hémoglobiniques.

On observe en outre, à certains stades de développement, de petits amas de molécules de ferritine, identiques à ceux des sidéroblastes des Vertébrés. La ferritine se trouve également, en amas, dans la zone de Golgi et, à l'état dispersé, au sein des vacuoles au milieu des molécules d'hémoglobine non encore cristallisée.

L'ensemble de ces constatations évoque fortement l'idée d'une sécrétion de l'hémoglobine par le corps de Golgi, ou, tout au moins, de la participation des vésicules et saccules golgiens aux derniers stades de la synthèse hémoglobinique.

*(Centre National de Transfusion Sanguine,
Laboratoire de Cytologie du Professeur M. BESSIS.
6, rue Alexandre-Cabanel, Paris.)*

BIBLIOGRAPHIE

1955. AFZELIUS (B. A.). — The ultrastructure of the nuclear membrane of the sea urchin oocyte as studied with electron microscope (*Exp. Cell Res.*, **8**, p. 147). —
1956. Electron microscopy of Golgi elements in sea urchin eggs (*Ibidem*, **11**, p. 67).
1956. ANDERSON (E.) et BEAMS (H. W.). — Evidence from electron micrographs for the passage of material through pores of the nuclear membrane (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 439).
1947. BAHL (K. N.). — Excretion in the Oligochaeta (*Biol. Rev.*, **22**, p. 108).
1924. BARGROFT (J.) et BARGROFT (H.). — The blood pigment of *Arenicola* (*Proc. Roy. Soc. London*, **96**, p. 28).
1959. BARGMANN (W.) et KNOPP (A.). — Ueber die morphologie der Milchsekretion licht und elektronen mikroskopische studien an der Milchdrüse der Ratte (*Z. Zellforsch. u. Mikr. Anat.*, **49**, p. 344).
1955. BEAMS (H. W.), TAHMISIAN (T. N.) et DEVINE (R. L.). — Electron microscope studies on the cells of malpighian tubules of the grasshopper (*Orthoptera, Acrididae*) (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, p. 197).
1956. BEAMS (H. W.), TAHMISIAN (T. N.), DEVINE (R. L.) et ANDERSON (E.). — Electron microscope studies on the dictyosomes and acroblasts in the male germ cells of the cricket (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, n° 4, suppl., p. 123).
1891. BEDDARD (F.). — Contributions to the Anatomy of Earthworms. (*Quat. Jour. of Mic. Sc.*, **32**, p. 293).
1936. BELL (A. W.). — On the cytology of the chloragogue cells in the Enchytraeid worm *Fredericia losangelensis* (Thesis, Univ. Calif., Berkeley).
1956. BELT (W. D.) et PEASE (D. C.). — Mitochondrial structure in sites of steroid secretion (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 369).
1955. BERNHARD (W.), BAUER (A.), GROPP (A.), HAGUENAU (F.) et OBERLING (C.). — L'ultrastructure du nucléole des cellules normales et cancéreuses. (*Exp. Cell Res.*, **9**, p. 88).
1961. BESSIS (M.). — *Communication personnelle*.
1956. BESSIS (M.) et BRETON-GORIUS (J.). — Disposition particulière du réticulum endoplasmique des érythroblastes. Etude au microscope électronique (*C. R. Acad. Sci.*, **243**, p. 1356). — 1957. Trois aspects du fer dans les coupes d'organes examinés au microscope électronique (*C. R. Acad. Sci.*, **245**, p. 1271). — 1959 a. Différents aspects du fer dans l'organisme : ferritine et micelles ferrugineuses. Différentes formes de l'hémosidérine (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **6**, p. 231). — 1959 b. Ilot érythroblastique : nouvelles observations sur l'ilot érythroblastique et la rhophéocytose de la ferritine (*Rev. Hémat.*, **14**, p. 165). — 1960. Aspect de la molécule de ferritine et d'apoferritine au microscope électronique (*C. R. Acad. Sci.*, **250**, p. 1360). — 1962. Iron metabolism in the bone marrow as seen with electron microscopy (*Blood*, **19**, p. 635).
1958. BESSIS (M.), BRETON-GORIUS (J.) et THIÉRY (J. P.). — Centriole, corps de Golgi et aster des leucocytes. Etude au microscope électronique (*Rev. Hémat.*, **13**, p. 363).
1939. BLOCH-RAPHAËL (C.). — Localisation, formation et destruction de l'hémoglobine chez les Annélides Polychètes (*Ann. Inst. Océan.*, **19**, fasc. 1).
1955. BRACHET (J.). — Recherches sur les interéactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. I. *Amæba proteus* (*Biochim. et Biophys. Acta*, **18**, p. 247).
1959. BRANDT (P. W.) et PAPPAS (G. D.). — Mitochondria. II. The Nuclear Mitochondrial relationship in *Pelomyxa carolinensis* Wilson (Chaos chaos) (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **6**, p. 91).

1959. BRENNER (S.) et HORNE (R. W.). — A negative staining method for high resolution electron microscopy of viruses (*Biochim. et Biophys. Acta*, **34**, p. 103).
1959. BROWN (C. A.) et RIS (H.). — Amphibian oocyte nucleoli (*J. morph.*, **105**, p. 377).
1888. BRUNOTTE (C.). — Recherches anatomiques sur une espèce du genre *Branchioma* (*Trav. Station Zool., Cette*, **3**).
1955. BURGOS (M. H.) et FAWCETT (D. W.). — Studies on the fine structure of the Mammalian testis. I. Differentiation of the spermatids in the cat (*Felis domestica*) (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, p. 287).
1957. BUVAT (R.). — Cytologie végétale. Formations de Golgi dans les cellules radicales d'*Allium cepa* L. (*C. R. Acad. Sci.*, **244**, p. 1401).
1958. BUVAT (R.) et LANCE (A.). — Evolution des infrastructures de mitochondries au cours de la différenciation cellulaire (*C. R. Acad. Sci.*, **247**, 1130).
1961. CARASSO (N.) et FAVARD (P.). — Les ultrastructures cytoplasmiques (In : C. MAGNAN, *Traité de Microscopie Electronique*, Hermann et C^{ie}, édit., Paris, p. 901).
1961. CARO (L. G.). — Electron microscopic radioautography of thin sections : the Golgi zone as a site of protein concentration in pancreatic acinar cells (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **10**, p. 37).
1961. CARO (L. G.) et PALADE (G. E.). — Le rôle de l'appareil de Golgi dans le processus sécrétoire. Etude autoradiographique (*C. R. Soc. Biol.*, **155**, p. 1750).
1890. CERFONTAINE (P.). — Recherches sur le système cutané et sur le système musculaire du Lombric terrestre (*Arch. de Biol.*, **10**, p. 327).
1887. CHALMERS (J.) et GIBSON (R. J. H.). — On the so called hepatic cells of the Earthworm (*Proc. Liverpool Biological*, I).
1962. CHANDRA (S.). — The reversal of mitochondrial membrane (*Jour. Cell Biol.*, **12**, p. 503).
1873. CLAPARÈDE (E.). — Recherches sur la structure des Annélides sédentaires (*Mém. Soc. phys. Hist. Nat. Genève*, **22**, p. 1). — 1869. Histologische Untersuchungen über den Regenwurm (*Zeitsch. für wiss. Zool.*, **19**, p. 563).
1956. CLERMONT (Y.). — The Golgi zone of the Rat spermatid and its role in the formation of cytoplasmic vesicles (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 119).
1949. COHEN (S.) et LEWIS (H.). — The nitrogenous metabolism of the Earthworm (*Lumbricus terrestris*) (*J. Biol. Chem.*, **180**, p. 791).
1891. CUÉNOT (L.). — Etudes sur le sang et les glandes lymphatiques dans la série animale (*Arch. Zool. exp.*, **9**, p. 416). — 1898. Etudes physiologiques sur les Oligochètes (*Arch. Bio.*, **15**, p. 79).
1952. DALTON (A. J.). — A study of the Golgi material of hepatic and intestinal epithelial cells with electron microscope (*Z. Zellforsch. Microsk. Anat.*, **36**, p. 522). — 1955. A chrome osmium fixative for electron microscopy (*Anat. Rec.*, **121**, p. 281).
1954. DALTON (A. J.) et FELIX (M. D.). — Cytologic and cytochemical characteristics of the Golgi substance of epithelial cells of the epididymis *in situ*, in homogenates, and after isolations (*Am. J. Anat.*, **94**, p. 171). — 1956. A comparative study of the Golgi complex (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 79).
1900. DE BOCK (M.). — Le corps cardiaque des Oligochètes (*Rev. Suisse Zool.*, **8**, p. 108).
1894. DE SAINT-JOSEPH. — Les Annélides Polychètes des côtes de Dinard (*Ann. Sci. Nat., zool.*, 7^e série, **17**, p. 121).
1933. DUBOSQ (O.) et GRASSÉ (P. P.). — L'appareil parabasal des flagellés (*Arch. Zool. Exp. gen.*, **73**, p. 381).
1946. DUNN (R. C.). — A haemoglobin stain for histologic use based on the cyanol haemoglobin reaction (*Arch. Path.*, **41**, p. 676).
1951. DURCHON (M.) et LAFON (M.). — Quelques données biochimiques sur les Annélides (*Ann. Sci. nat., Zool. Biol. anim.*, série 11, **13**, p. 427).
1887. EISIG (H.). — Die Capitelliden. Fauna und Flora des Golfes von Neapel (*Monographie der Capitelliden des Golfes von Neapel*, Berlin, p. 731).

1956. FARRANT (J. L.) et HODGE (A. J.). — The ferritin crystal lattice in ultra-thin section (In : *Proc. 3rd Internat. Conf. Elect. Micros., London, Royal Micros. Society*, p. 118).
1957. FARQUHAR (M. G.) et WELLINGS (S. R.). — Electron microscopic evidence suggesting secretory granule formation within the Golgi apparatus (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, p. 319).
1925. FAURÉ-FRÉMIET (E.) et MURAKAMI (J.). — Les amibocytes du Lombric à l'état quiescent et à l'état actif (*C. R. Acad. Sci., Paris*, **180**, p. 1693).
- 1899 a. FAUVEL (P.). — Sur le pigment des Arénicoles. Mémoires divers (Paris, n° 4, *C. R. Acad. Sci.*, **129**, p. 273). — 1899 b. Observations sur les Arénicolien (Mém. Soc. Sc. nat. de Cherbourg, **31**, p. 101). — 1927. *Annélides Polychètes sédentaires* (Faune de France, **16**, p. 162).
1958. FAVARD (P.). — L'origine ergastoplasmique des granules protéiques dans les spermatozoïdes d'*Ascaris* (*C. R. Acad. Sci.*, **247**, p. 531). — 1959. L'évolution de l'ergastoplasme dans les spermatozoïdes d'*Ascaris* (*C. R. Acad. Sci.*, **248**, p. 3344). — 1961. Evolution des ultrastructures cellulaires au cours de la spermatogénèse de l'*Ascaris* (*Ascaris megalocephala* S) (*Ann. des Sci. Nat.*, **3**, p. 53).
1959. FAWCETT (D. W.). — Changes in the fine structure of the cytoplasmic organelles during differentiation (In : *Developmental Cytology*, The Ronald Press Company, édit. New-York, p. 161).
1957. FERREIRA (J. F. D.). — L'ultrastructure des cellules du pancréas endocrine chez l'embryon et le Rat nouveau-né (*J. Ultrastruct. Res.*, **1**, p. 14). — 1959. A diferenciação do condrioma aparelho de Golgi e ergastoplasma (Thèse, Lisbonne, 214 pages).
1940. FISCHER (H.) et WECKER (G.). — Le chlorocruohème diffère du protohème par le remplacement du groupement 2-vinyle par un radical 2-formyle (*Z. Physiol. Chem.*, **272**, p. 1).
1934. FLORKIN (M.). — *Transporteurs d'oxygène* (1 vol., 44 p., in coll. Actual. Scientif. et Indus. Série exposés de Physiologie. Hermann et Cie, édit. Paris).
1955. FOX (M.). — The effect of oxygene on the concentration of heam in Invertebrates (*Proc. Roy. Soc., série B*, **143**, p. 201).
1955. FOX (M.) et TAYLOR (A.). — The tolerance of oxygene by aquatic Invertebrates (*Proc. Roy. Soc. London, série B*, **143**, p. 214).
1958. FRÉDÉRIC (J.). — Recherches cytologiques sur le chondriome normal ou soumis à l'expérimentation dans les cellules vivantes cultivées *in vitro* (*Arch. Biol.*, **69**, p. 167).
1905. FREUDWEILER (H.). — Studien uber das Gefäßsystem niederer Oligochaeten (*Jen. Z. Natur W.*, **40**, p. 383).
1961. GABE (M.). — *Communication personnelle*.
1898. GAMBLE (F. W.) et ASHWORTH (J. H.). — The habits and structure of *Arenicola marina* (*Quart. Jour. of Micr. Sc.*, **41**, p. 1). — 1900. The anatomy and classification of the Arenicolidae (*Quart. Jour. of Micr. Sc.*, **43**, p. 419).
1898. GOLGI (C.). — Sur la structure des cellules nerveuses des ganglions spinaux (*Arch. Ital. Biol.*, **30**, p. 60).
1926. GRASSÉ (P. P.). — Contribution à l'étude des Flagellés parasites (*Arch. Zool. exp. gén.*, **65**, p. 345). — 1956. L'appareil parabasal et l'appareil de Golgi sont un même organite; leur ultrastructure, leur mode de sécrétion (*C. R. Acad. Sci.*, **242**, p. 858). — 1957. Ultrastructure, polarité et reproduction de l'appareil de Golgi (*C. R. Acad. Sci.*, **245**, p. 1278). — 1957. L'appareil de Golgi des Protozoaires et son ultrastructure comparée à celle des Métazoaires (*Stockholm conférence on electron microscopy*, **143**, 1956. Almquist et Wiksells, édit., Amsterdam, 1957).
1955. GRASSÉ (P. P.), CARASSO (N.) et FAVARD (P.). — Les dictyosomes (appareil de Golgi) et leur ultrastructure (*C. R. Acad. Sci.*, **241**, p. 1243). — 1955. L'ultrastructure de la spermatide d'escargot (*Helix pomatia* L.) : chromosomes, enveloppes nucléaires, centrosomes (*C. R. Acad. Sci.*, **241**, p. 1430).

1957. GRASSÉ (P. P.) et CARASSO (N.). — Ultrastructure of the Golgi apparatus Protozoa and Metazoa (somatic and germinal cells) (*Nature*, **179**, p. 31).
1887. GROBBEN (C.). — Die pericardialdrüse der Chatopoden Anneliden nebst Bemerkungen über die perienterische Flüssigkeit derselben (*Sitz. d. K. Akad. d. wiss zu Wien*, **97**, p. 250).
1955. HAGUENAU (F.) et BERNHARD (W.). — L'appareil de Golgi dans les cellules normales et cancéreuses des Vertébrés (*Arch. Anat. Micr. Morph. exp.*, **44**, p. 27).
1955. HAGUENAU (F.) et LACOUR (F.). — Cytologie électronique de tumeurs hypophysaires expérimentales; leur appareil de Golgi (*Fine structure of Cells*, Noor-dhoff, édit., Groningen, p. 316).
1960. HAMA (K.). — The fine structure of some blood vessels of the Earthworm *Eisenia fetida* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, p. 717).
1949. HANSON (J.). — Blood system histologic in *Oligochæta* and *Polychæta* (*Biol. Rev.*, **24**, p. 127).
1956. HARVEN (E. DE) et BERNARD (W.). — Etude au microscope électronique de l'ultrastructure du centriole chez les Vertébrés (*Z. Zellforsch. u. Mikr. Anat.*, **45**, p. 378).
1958. HAY (E. D.). — The fine structure of blastema cells and differentiating cartilage cells in regenerating limbs of *Amblystoma larvae* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 583).
1937. HEIDERMANN (C.). — Ueber die Harnstoffbildung beim Regenwurm (*Zool. J.*, **58**, p. 57).
1951. HERLANT-MEEWIS (H.). — Enkystement chez les Oligochètes *Æolosomatidæ* (*Rev. canad. Biol.*, **9**, p. 429).
1960. HERMANN (L.). — An electron microscope study of the Salamander thyroïd during hormonal stimulation (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, p. 143).
1923. HERTLING (H.). — Untersuchungen über die Typhlosis und ihre Vascularisierung bei terricolen Oligochaeten (*Zeit. wiss Zool.*, **120**, p. 147).
1939. HIRSH (G. C.). — *Form und Stoffwechsel der Golgi Körper*, Berlin, Proto-plasma Monographs, Bd 18.
1958. HOFFMAN (H.) et GRIGG (G. W.). — An electron microscopy study of mitochondrial formation (*Exp. Cell Res.*, **15**, p. 118).
1906. ISSEL (R.). — Interno alli escreti dei limfociti (*Archivo Zool.*, **2**, p. 125).
1961. KARNOVSKY (M. J.). — Simple methods for « staining with lead » at high pH in electron microscopy (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **11**, p. 729).
1958. KENNEDY (G. Y.) et DALES (R. P.). — The function of the heart-body in Polychaetes (*J. mar. biol. Ass. UK*, **37**, p. 15).
1960. KERR (D. N. S.) et MUIR (A. R.). — Demonstration of the structure and disposition of ferritin in the human liver cells (*J. Ultrastruct. Res.*, **3**, p. 313).
1889. KOWALEVSKY (A.). — Ein Beitrag zur Kenntniss der excretionsorgane (*Biol. Centralblatt*, **9**, p. 70).
1882. KRUKENBERG (C. F. W.). — Blut und Lymphe von *Arenicola piscatorum* (*Vergl. Stud. II, Reihe II*, Abth.).
1959. KUFF (E. L.) et DALTON (A. J.). — Activity of the isolated membranes of the Golgi system (In : T. HAYASHI, *Subcellular Particles*, Amer. Physiol. Soc., édit., Washington, p. 114).
1885. KÜENTHAL (W.). — Ueber die lymphoiden Zellen der Anneliden (*Jenaische Zeitsch.*, **18**, p. 319).
1961. KUROSUMI (K.). — Electron microscopic analysis of the secretion mechanism (*Intern. Rev. of Cytol.*, **11**, p. 1).
1957. LACY (D.). — The Golgi apparatus in neurons and epithelial cells of the common limpet *Patella vulgata* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, p. 779).
1958. LAFONTAINE (J. G.). — Structure and mode of formation of the nucleolus in meristematic cells of *Vicia faba* and *Allium cepa* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, p. 777).
1870. LANKESTER (E. RAY.). — On some migration of cells (*Quart. J. Micr. Sc.*, **10**, p. 265). — 1873. A contribution to the knowledge of haemoglobin (*Proc. Roy. Soc.*, série B, **21**, p. 71).

1865. LEYDIG (Dr. F.). — Ueber *Phreoryctes menkeanus* (Arch. für Mikrosk. Anat., **1**, p. 249).
- 1942 a. LIEBMANN (E.). — The role of the chloragogue in regeneration of *Eisenia fetida* (J. of Morph., **70**, p. 151). — 1942 b. The cœlomocytes of *Lumbricidæ* (Ibidem, **71**, p. 221).
1945. LIGNAC (G. O. E.). — About Arenicochrome and its possible significance as a mesocatalyst (Proc. Neder. Akad., **46-48**, p. 406).
1956. LUFT (J. H.). — Permanganate, a new fixative for electron microscopy (J. Biophys. Biochem. Cytol., **2**, p. 799). — 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods (Ibidem., **9**, p. 409).
1887. MEYER (E.). — Studien über den Körperbau der Anneliden (Mitth. aus der Stat zu Neaple, **8**, p. 646).
1886. MICHAELSEN (W.). — Ueber Chylusgefäßsystem bei Enchytraeiden (Arch. für Mikros. Anat., **28**, p. 292).
1829. MORREN (C.). — De *Lumbrici terrestris historia naturali nec non anatomia tractatus* (Bruxelles, apud. H. TALLIER, **15**).
1958. MUNGER (B. L.). — A phase and electron microscopic study of cellular differentiation in pancreatic acinar cells of the Mouse (Amer. J. Anat., **103**, p. 1).
1959. NILSSON (O.). — Ultrastructure of Mouse uterin surface epithelium under different estrogenic influences (J. Ultrastruc. Res., **2**, p. 373).
1959. NOMARSKI (G.) et BESSIS (M.). — Examen et microphotographie des cellules contenant de l'hémoglobine à l'aide des filtres interférentiels transmettant la bande de Soret (Rev. Hémat., **14**, p. 399).
1937. OHUYE (T.). — On the cœlomic corpuscles (Sc. Rep. Tohoku Imp. Univ. Sendai, série 4, **12**, p. 203, 593, 623).
1956. ORNSTEIN (L.). — Mitochondrial and nuclear interaction (J. Biophys. Biochem. Cytol., **2**, suppl. n° 4, p. 351).
- 1956 a. PALADE (G. E.). — Intracisternal granules in the exocrine cells of the pancreas (J. Biophys. Biochem. Cytol., **2**, p. 417). — 1956 b. The endoplasmic reticulum (Ibidem, **2**, suppl., p. 85). — 1959. Functional changes in the structure of cell components (Subcellular particules, T. Hayashi, édit., Amer. Physiol. Soc., Washington, p. 64). — 1961. In *Electron microscopy in anatomy* (J. D. Boyd Fr. Johnson, J. D. Lever, édit., London, Edward Arnold publishers Ltd).
1958. PALAY (S. L.). — Morphology of secretion (In : *Frontiers in cytology*. Yale Univers. Press, édit., New Haven, Connecticut, p. 303). — 1960 a. On the appearance of absorbed fat droplets in the nuclear envelope (J. Biophys. Biochem. Cytol., **7**, p. 391). — 1960 b. Fine structure of neuro-secretory cells in the preoptic nucleus of fishes (In : *Proc. 2nd European Regional Conf. Electron Micr.*, Delft, p. 831).
1928. PARAT (M.). — Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme (Arch. Anat. Micr., **24**, p. 73).
1872. PERRIER (E.). — Histoire naturelle du *Dero obtusa* (Arch. Zool. exp., 1^{re} série, **1**).
1910. PERRONCITO (A.). — Contributo allo studio della biologica cellulare (Arch. Ital. Biol., **54**, p. 307).
1939. PESCHEN (K. E.). — Untersuchungen über das Vorkommen und den Stoffwechsel des guanins im Tierreich (Zool. Jahrb. Jena, Abt. Zool., **59**, p. 429).
1913. PEYREGA (E.). — *Recherches spectrographiques sur le sang d'Arénicole* (1 vol., 62 p., Jouve et C^{ie}, édit.).
1898. PICTON (L. J.). — On the heart body and cœlome fluid of certain *Polychæta* (Quart. Jour. of Micr. Sc., **41**, p. 263).
1956. POLICARD (A.) et BESSIS (M.). — Sur l'espace périnucléaire (Exp. Cell Res., **2**, p. 490).
1958. POLICARD (A.), BESSIS (M.), BRETON-GORIUS (J.) et THIÉRY (J. P.). — Polarité de la centrosphère et des corps de Golgi dans les leucocytes de Mammifères (Excep. Cell Res., **14**, p. 221).
1957. POLLISTER (A. W.) et POLLISTER (P. F.). — The structure of the Golgi apparatus (Inter. Rev. Cytol., **6**, p. 85).

1954. PORTER (K. R.). — Electron microscopy of basophilic components of cytoplasm (*J. Histo. Cytochem.*, **2**, p. 346).
1956. POWERS (F. L.), EHRET (C. F.), ROTH (L. E.) et MINICK (O. T.). — The internal organization of mitochondria (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 341).
1960. REVEL (J. P.), NAPOLINATO (L.) et FAWCETT (D. W.). — Identification of glycogen in electron micrographs of thin tissue sections (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **8**, p. 575).
1936. ROCHE (J.). — *Essai sur la biochimie générale et comparée des pigments respiratoires* (Thèse Doc. ès Sc., 1 vol., Masson et C^{ie}, édit., Paris, 170 p.).
1934. ROCHE (J.) et JEAN (G.). — Recherches sur la composition en acides aminés des pigments respiratoires des Invertébrés (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, **16**, p. 769).
1937. ROCHE (J.) et COMBETTE (R.). — Recherches sur les érythrocrurines (hémoglobine des Invertébrés) (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, **19**, p. 613).
- 1960 a. ROCHE (J.), BESSIS (M.) et THIÉRY (J. P.). — Etude d'hémoglobine d'*Arenicola marina* L. au microscope électronique (*C. R. Soc. Biol., Paris*, **154**, 73). — 1960 b. Etude au microscope électronique d'hémoglobines et de chlorocrurines d'Annélides (*C. R. Soc. Biol., Paris*, **154**, 949). — 1960 c. Etude de l'hémoglobine de quelques Annélides au microscope électronique (*Biochim. Biophys. Acta*, **41**, p. 182).
- 1961 a. ROCHE (J.), BESSIS (M.), BRETON-GORIUS (J.) et STRALIN (H.). — Mise en évidence de molécules d'hémoglobine et de ferritine dans certaines cellules d'*Arenicola marina* L. (*C. R. Acad. Sci.*, **252**, p. 3886). — 1961 b. Molécules d'hémoglobine et de ferritine dans les cellules chloragogènes d'*Arenicola marina* L. (*C. R. Soc. Biol.*, **155**, p. 1790).
1923. ROMIEU (M.). — Recherches histo-physiologiques sur le sang et le corps cardiaque des Annélides Polychètes (*Arch. Morph. exp. gen.*, **17**, p. 1).
1898. ROSA (D.). — Sur de prétendus rapports génétiques entre lymphocytes et le chloragogène (*Arch. Ital. Biol.*, **30**, p. 35). — 1902. Le chloragogène typique des Oligochètes (*Ibid.*, **37**, p. 454).
1883. SALENSKY (W.). — Etudes sur le développement des Annélides (*Arch. Biol.*, **4**, p. 143).
1896. SCHNEIDER (G.). — Ueber phagocytäre organe und chloragogenzellen der Oligochaeten (*Z. wiss. Zool.*, **61**, p. 63).
1955. SEDAR (A. W.). — Fine structure of parental cells (*Anat. Record*, **121**, p. 365).
1956. SEDAR (A. W.) et RUDZINSKA (M. A.). — Mitochondria of Protozoa (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, suppl., p. 331).
1956. SEMAL VAN GANSEN (P.). — Les cellules chloragogènes des Lombriciens (*Bull. biol. France et Belgique*, **90**, p. 335). — 1957. Le lipopigment des chloragosomes des Lombriciens (*Ann. Histoch.*, **2**, p. 41).
1958. SEMAL VAN GANSEN (P.) et VAN DER MEERSSE (G.). — L'ultrastructure des cellules chloragogènes (*Bull. Micr. appl.*, **8**, p. 7).
1962. SHELDON (H.) et KIMBALL (F. B.). — Studies on cartilage. III. The occurrence of collagen within vacuoles of the Golgi apparatus (*J. Cell Biol.*, **12**, p. 599).
- 1954 a. SÖSTRAND (F. S.) et HANZON (V.). — Electron microscopy of the Golgi apparatus of the exocrine pancreas cells (*Experientia*, **10**, p. 367). — 1954 b. Ultrastructure of Golgi apparatus of exocrine cells of mouse pancreas (*Exp. Cell. Res.*, **7**, p. 415).
1959. SLAUTTERBACK (D. B.) et FAWCETT (D. W.). — The development of the cnidoblasts of *Hydra*. An electron microscope study of cell differentiation (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, p. 441).
1876. SORBY (H. Q.). — On the evolution of haemoglobin (*Quart Jour. Micr. Sc.*, **16**, p. 76).
1930. STEPHENSON (J.). — *The Oligochaeta*, 1 vol. (Oxford At. Clarendon Press, Chloragogen cells, p. 44).
1957. STOECKENIUS (W.). — Golgi. Apparat und Centriol Menschlicher Plasmazellen (*Frankfurt Z. Path.*, **68**, p. 404).

1959. STRUNK (S. W.). — The formation of intra-cellular crystals, in midgut glands of *Limnoria lignorum* (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, p. 385).
1933. SVEDBERG (T.) et ERIKSSON (I. B.). — The molecular weight of erythrocrucorin (*J. Amer. Chem. Soc.*, **55**, p. 2834). — 1934. The molecular weight of erythrocrucorin, II. (*Ibid.*, **56**, p. 1700).
1934. SVEDBERG (T.) et HEDENIUS (A.). — The sedimentation constants of respiratory proteins (*Biol. Bull.*, **66**, p. 191).
1883. TIMM (R.). — Beobachtungen an Phreoryctes und Naïs (*Arbei. Zool. Inst. Würzburg*, **6**, p. 109).
1879. VEJDOVSKY (F.). — *Beitrage zur Vergleichenden Morphologie der Anneliden* (Monographie der Enchytraeiden. E. Tempisky, édit., Prague). — 1884. *System und Morphologie der Oligochaeten* (Prague).
1923. VLÈS (F.). — Notes sur les propriétés spectrales de l'hémoglobine des Annélides (*Arch. Phys. biol.*, **2**, p. 1).
1888. VOGT (G.) et YUNG (E.). — *Traité d'anatomie comparée pratique* (C. Reinwald et C^{ie}, édit., Paris, p. 46).
1928. VON BUDDENBROCK (W.). — *Grundriss der Vergleichenden Physiologie*, p. 698 et 709).
1928. WALKER (C. E.) et ALLEN (M.). — Artefacts as a guide to the chemistry of the cell (*Proc. Roy. Soc.*, série B, **103**, p. 397).
1955. WATSON (M. L.). — The nuclear envelope. Its structure and relation to cytoplasm membranes (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, p. 257). — 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals (*Ibid.*, **4**, p. 475).
1953. WEISS (J. M.). — Ergastoplasm; its fine structure and relation to protein synthesis as studied with electron microscope in pancreas of Swiss albino Mouse (*J. exp. Med.*, **98**, p. 607).
1961. WELLINGS (S. R.) et DEOME (K. B.). — Milk protein droplet formation in the Golgi apparatus of the C3H/CrGl Mouse mammary epithelial cells (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, p. 479).
1959. WHALEY (W. G.), MOLLENHAUER (H. H.) et KEPHART (J. E.). — The endoplasmic reticulum and the Golgi structure in maize root cells (*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5**, p. 501).
1899. WILLEM (V.). — *Excrétion chez l'Arénicole* (*Trav. Lab. Wimereux*, **7**, p. 555).
1899. WILLEM (V.) et MINNE (A.). — *Recherches sur la digestion et l'absorption intestinale chez Lombric* (Livre jubilaire dédié à Ch. Van Bambeke, Bruxelles, p. 201).
- 1900. Recherches sur l'excrétion chez quelques Annélides (*Mémoires couronnés de l'Acad. Royale des Sciences et Lettres de Bruxelles*, **1**, p. 58).
1959. ZELANDER (T.). — Ultrastructure of articular cartilage (*Z. Zellforsch.*, **49**, p. 720).
1956. ZETTERQUIST (H.). — *The ultrastructure organization of the columnar absorptive cells of the Mouse jejunum* (Aktiebolaget Godvil, Stockholm).

LÉGENDES DES PLANCHES

PLANCHE I

CELLULES CHLORAGOGÈNES VUES A UN FAIBLE GROSSISSEMENT

(Arénicole n° 104.)

Le vaisseau (*V*) se trouve en bas, à gauche. Deux cellules chloragogènes y sont accolées. Le noyau (*N*) présente un gros nucléole (*n*), des chloragosomes (*chl*) et des vacuoles d'hémoglobine (*Hb*). On reconnaît quelques mitochondries (*M*). (× 13 000.)

PLANCHE II

CELLULE CHLORAGOGÈNE

(Arénicole n° 141.)

Les mottes de chromatine du noyau (*N*) commencent à s'individualiser. En haut, un centriole (*ce*) coupé longitudinalement se trouve au centre d'une zone grise représentant des futurs corps de Golgi. Aucun canalicule n'est encore visible. Les enclaves lipidiques (*L*) sont nombreuses. Il existe quelques chloragosomes (*Chl*) à structure hétérogène; les granulations de glycogène sont nombreuses. Noter, à droite, le vaisseau (*V*). (× 18 000.)

PLANCHE III

CELLULE CHLORAGOGÈNE MONTRANT UNE VACUOLE NUCLÉAIRE

(Arénicole n° 95.)

Le noyau, à ce stade, présente des mottes de chromatine. Une vacuole nucléaire (*Vn*) est limitée par une membrane simple. Elle contient un précipité sombre. L'espace périnucléaire ainsi que le réticulum endoplasmique (*RE*) sont très dilatés. En haut, des masses lipidiques (*L*) entourent le noyau; noter la présence de cinq mitochondries (*M*) et l'abondance de glycogène. En bas, à gauche, le vaisseau (*V*) rempli d'hémoglobine est limité par la zone fibrillaire (*f*). (× 24 500.)

PLANCHE IV

MEMBRANE NUCLÉAIRE ET MITOCHONDRIES

(Arénicole n° 95.)

Les mottes de chromatine s'échelonnent le long de la membrane nucléaire dont le feuillet externe est recouvert de ribosomes. Des pores (*pn*) interrompent l'espace périnucléaire. Dans les mitochondries, on distingue deux types de crêtes : tubulaires (*tu*) et normales. (× 97 750.)

PLANCHE V

MITOCHONDRIES ET ERGASTOPLASME

(Arénicole n° 98.)

Les mitochondries présentent des membranes internes de deux types. D'une part, les crêtes (*cr*) où on distingue, en bas (flèche), la communication directe avec la membrane extérieure, d'autre part, des membranes internes tubulaires (*tu*) comme chez certains Protistes. La matrix de toutes ces mitochondries est finement granulaire. On peut voir des ribosomes libres, ou attachés aux membranes du reticulum endoplasmique (*RE*). ($\times 48\ 000$.)

PLANCHE VI

RETICULUM ENDOPLASMIQUE

(Arénicole n° 104.)

Un centriole (*ce*), coupé transversalement, est cerné d'une zone claire sur laquelle se moulent (à gauche) les canalicules de l'appareil de Golgi. Un certain nombre de segments assez courts de réticulum endoplasmique granuleux (*RE*) sont vus le long de la membrane cytoplasmique et près de la zone de Golgi. Une vacuole contenant des molécules d'hémoglobine (*Hb*) est située à droite de la zone de Golgi. ($\times 64\ 000$.)

PLANCHE VII

VACUOLES CONTENANT DE L'HÉMOGLOBINE
ET MONTRANT UN DÉBUT DE CRISTALLISATION

(Arénicole n° 104.)

Au centre, une vacuole contient des molécules d'hémoglobine libres et des cristaux coupés dans différents plans (*C*). Dans la vacuole plus petite, à droite, les molécules (*Hb*) sont moins concentrées; on n'y observe aucune cristallisation. En haut, à droite, on distingue la zone de Golgi (*G*). ($\times 34\ 500$.)

PLANCHE VIII

DÉTAIL DE LA PLANCHE PRÉCÉDENTE ($\times 60\ 500$)

PLANCHE IX

CRISTAL D'HÉMOGLOBINE DANS UNE CELLULE CHLORAGOGÈNE

(Arénicole n° 102.)

La flèche indique un espace clair dû à l'absence d'un certain nombre de molécules d'hémoglobine. ($\times 78\ 300$.)

PLANCHE X

COMPARAISON ENTRE L'ASPECT DES MOLÉCULES D'HÉMOGLOBINE ISOLÉES,
EN COLORATION NÉGATIVE ET DES CRISTAUX INTRACELLULAIRES (VUE DE FACE)

(Arénicole n° 102.)

FIG. 1. — Sang d'Arénicole examiné par la technique de Brenner. Chaque molécule paraît formée de six éléments donnant à la molécule sa forme hexagonale. ($\times 155\ 000$.)

FIG. 2. — Coupe d'un cristal dans une cellule chloragogène. On ne peut distinguer les six éléments constitutifs de la molécule, mais on reconnaît sa forme hexagonale et l'espace central clair. Remarquer l'absence de neuf molécules dans une des rangées du cristal. ($\times 155\ 000$.)

PLANCHE XI

MOLÉCULES D'HÉMOGLOBINE EXAMINÉES EN COLORATION NÉGATIVE

Détail de la figure 1 de la planche précédente. ($\times 446\ 000$.)

PLANCHE XII

COMPARAISON ENTRE L'ASPECT DE MOLÉCULES D'HÉMOGLOBINE ISOLÉES,
EN COLORATION NÉGATIVE ET DE CRISTAUX INTRACELLULAIRES (VUE DE PROFIL)

(Arénicole n° 102.)

FIG. 1. — Sang d'Arénicole examiné par la technique de Brenner. Les molécules d'hémoglobine sont vues de face où elles présentent l'aspect hexagonal. Placées de profil, elles affectent la forme de la lettre X. ($\times 180\ 000$.)

FIG. 2. — Coupe d'un cristal. Dans un fragment de ce cristal, le plan de coupe est tel que certaines molécules d'hémoglobine alignées se présentent comme la lettre X, dans la particule encadrée. ($\times 180\ 000$.)

PLANCHE XIII

APPAREILS DE GOLGI DE TYPE IMMATURE

FIG. 1. — Arénicole n° 137.

FIG. 2. — Arénicole n° 135. Deux centrioles (*ce*), l'un coupé longitudinalement, l'autre presque transversalement, sont entourés de matériel golgien. On n'y distingue aucun canalicule ni vésicule, mais de petites vacuoles et du matériel amorphe. Noter des masses lipidiques (*L*), des granulations de glycogène (*gl*). Il est à signaler que, dans ce type de corps de Golgi, on ne trouve pas d'hémoglobine dans les cellules chloragogènes. ($\times 70\ 000$.)

PLANCHE XIV

L'APPAREIL DE GOLGI

(Arénicole n° 102.)

Les canalicules du Golgi se dilatent à droite en trois vésicules, dont l'une (*Vg*), plus allongée, contient des molécules d'hémoglobine (voir détail planche XV). D'autres vésicules (flèches), libres, en contiennent également. ($\times 68\ 000$.)

PLANCHE XV

COMPARAISON ENTRE L'ASPECT DE MOLÉCULES D'HÉMOGLOBINE
DANS LES VÉSICULES GOLGIENNES ET DANS UN CRISTAL INTRACELLULAIRE

FIG. 1. — Détail de la planche XIV. Dans l'ampoule terminale dilatée du canalicule, on reconnaît les molécules d'hémoglobine. Remarquer la forme en X, caractéristique du profil de la molécule et que l'on retrouve dans la figure 2. ($\times 155\ 000$.)

FIG. 2. — Coupe d'un cristal intracellulaire (même incidence que dans la vésicule golgienne ci-dessus). ($\times 155\ 000$.)

PLANCHE XVI

APPAREIL DE GOLGI. AUTRES ASPECTS SÉCRÉTOIRES

FIG. 1. — Les deux centrioles (*ce*), coupés obliquement, interrompent les canalicules de l'appareil de Golgi (*cg*). En haut, à gauche, ceux-ci sont dilatés en ampoules terminales (flèches). D'autres vésicules (*vg*), contenant des molécules d'hémoglobine, sont libres. ($\times 56\ 700$.)

FIG. 2. — Les canalicules golgiens (*cg*) se renflent (en bas, à gauche) en un chapelet de trois vésicules (*vg*) contenant des molécules d'hémoglobine. D'autres, libres, occupent le centre de la zone. Noter que les particules denses de glycogène (*gl*) ne pénètrent pas dans la zone de Golgi. ($\times 74\ 000$.)

PLANCHE XVII

MOLÉCULES DE FERRITINE DANS UNE CELLULE CHLORAGOGÈNE

(Arénicole n° 132.)

Au centre, des molécules de ferritine sont groupées en une granulation (*F*). L'espace périnucléaire est interrompu face à une zone plus claire du noyau (flèches). ($\times 136\ 000$.)

PLANCHE XVIII

CHLORAGOSOMES

(Arénicole n° 135.)

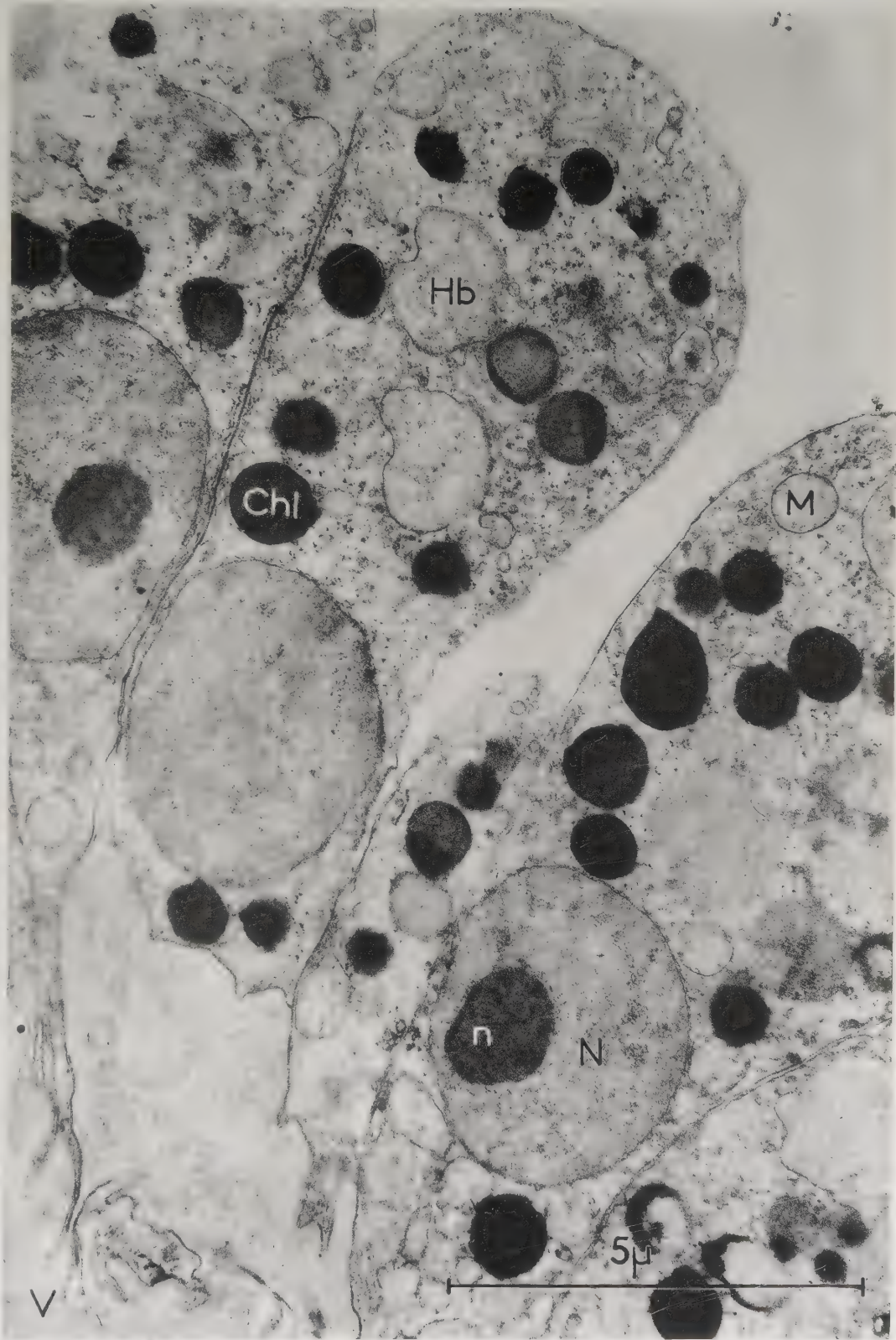
Le noyau (*N*) présente des mottes de chromatine. Au-dessus, une grosse masse composite (*Chl*) représente un chloragosome. On distingue sur son pourtour, à gauche, des structures myéliniques. Des vacuoles s'isolent dans cette masse contenant de gros corps denses. Remarquer, à gauche, un chloragosome plus petit et noter l'abondance des particules de glycogène dispersées dans le cytoplasme. (× 28 000.)

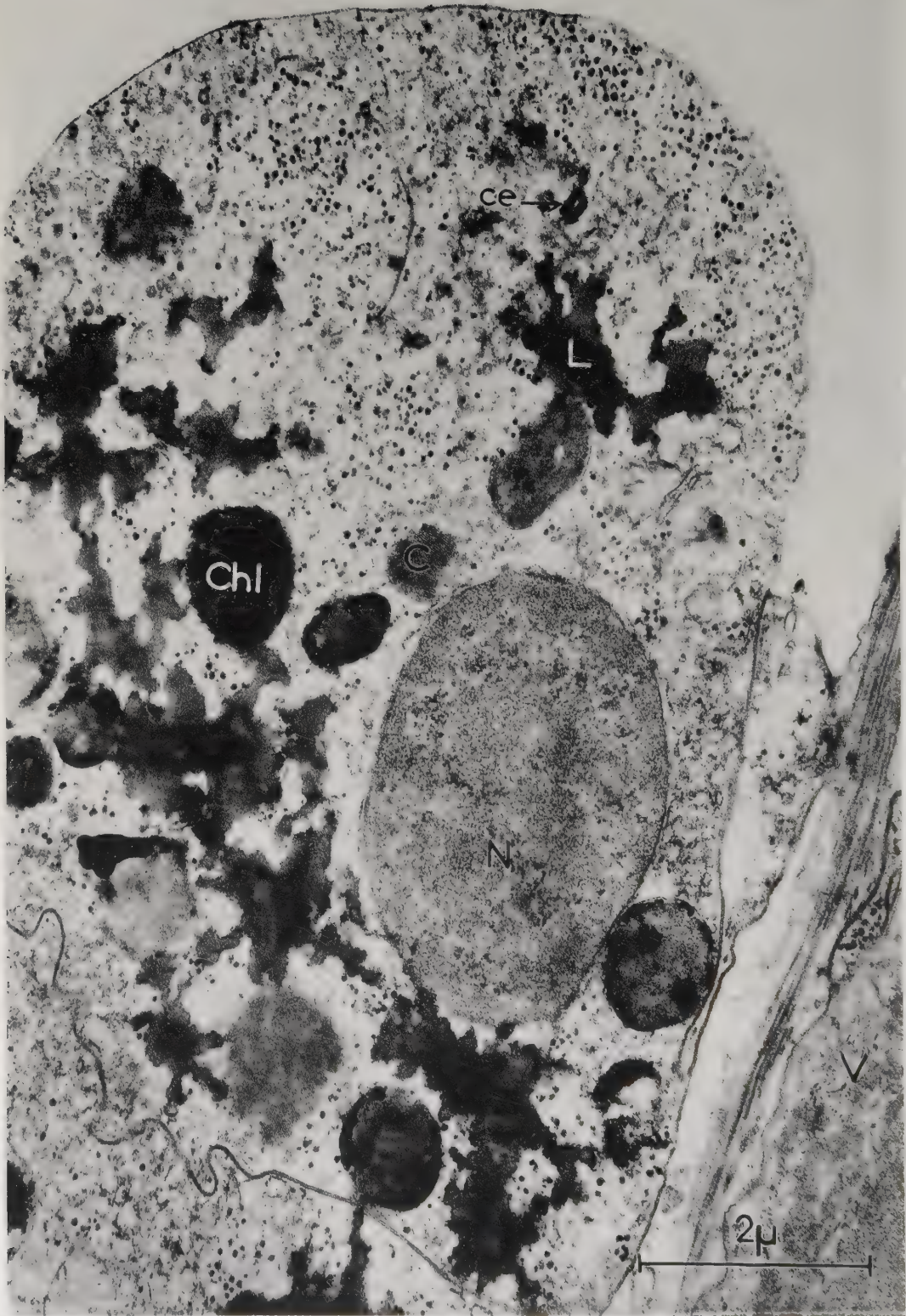
PLANCHE XIX

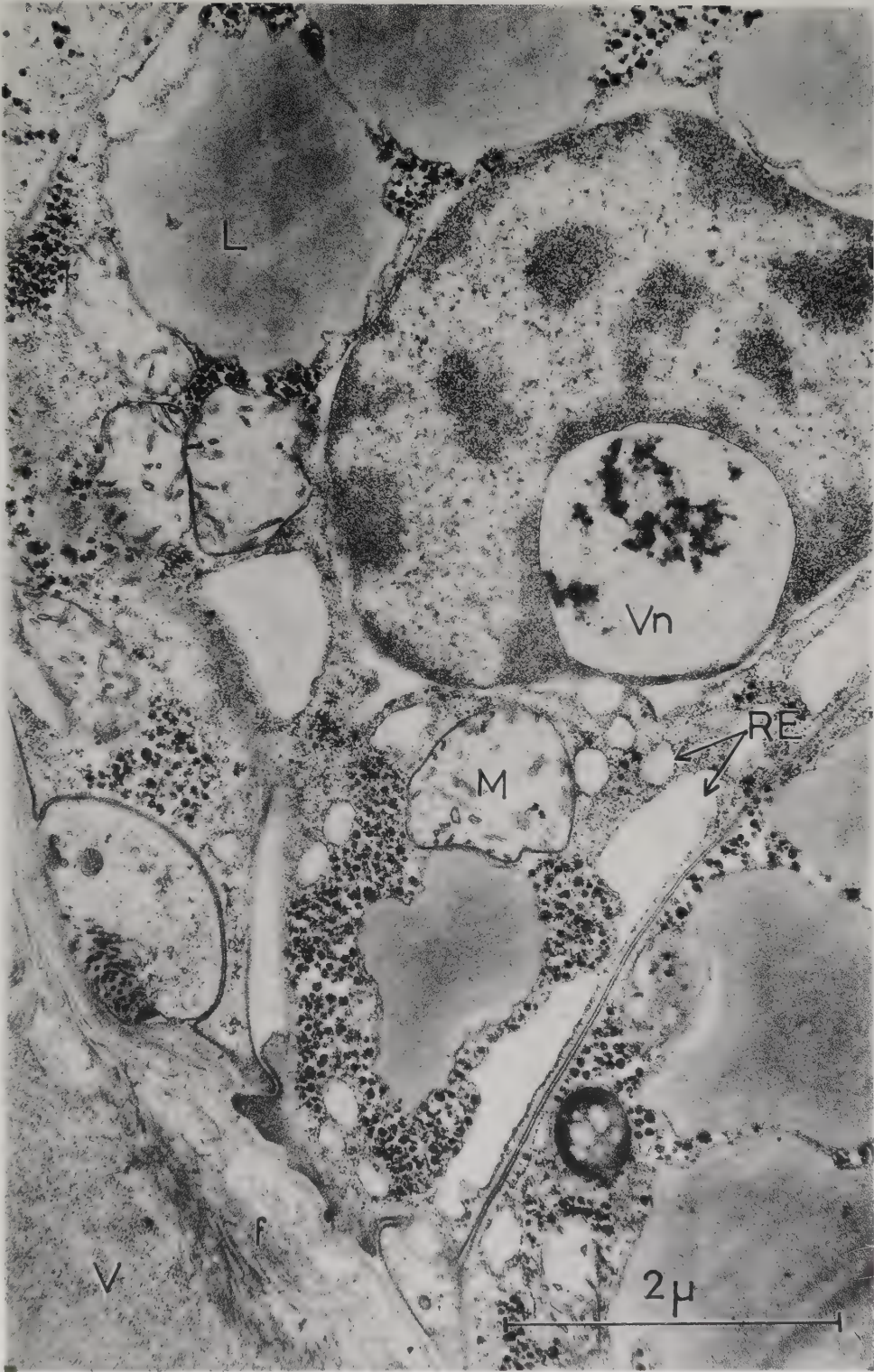
CELLULE BASOPHILE

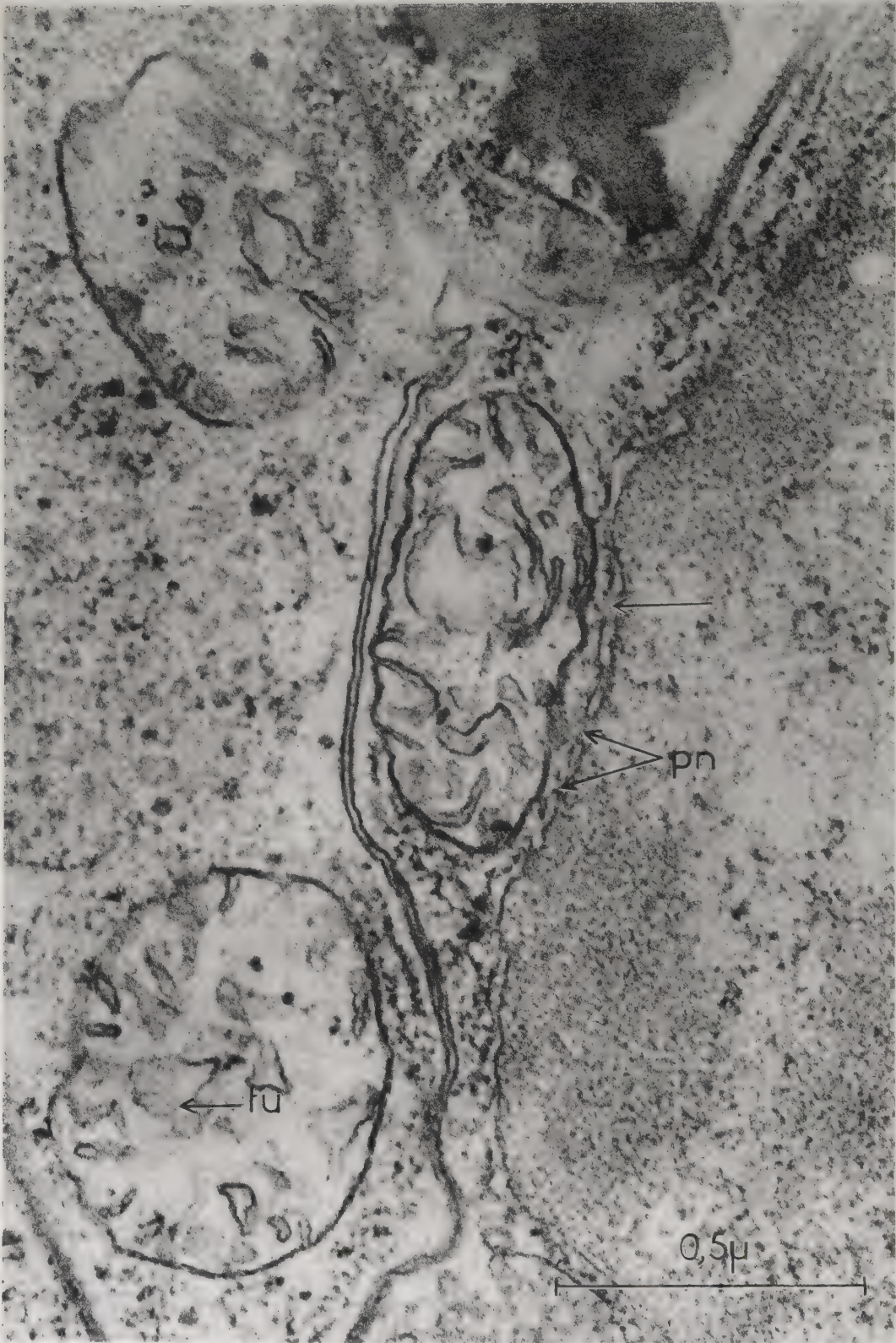
(Arénicole n° 102.)

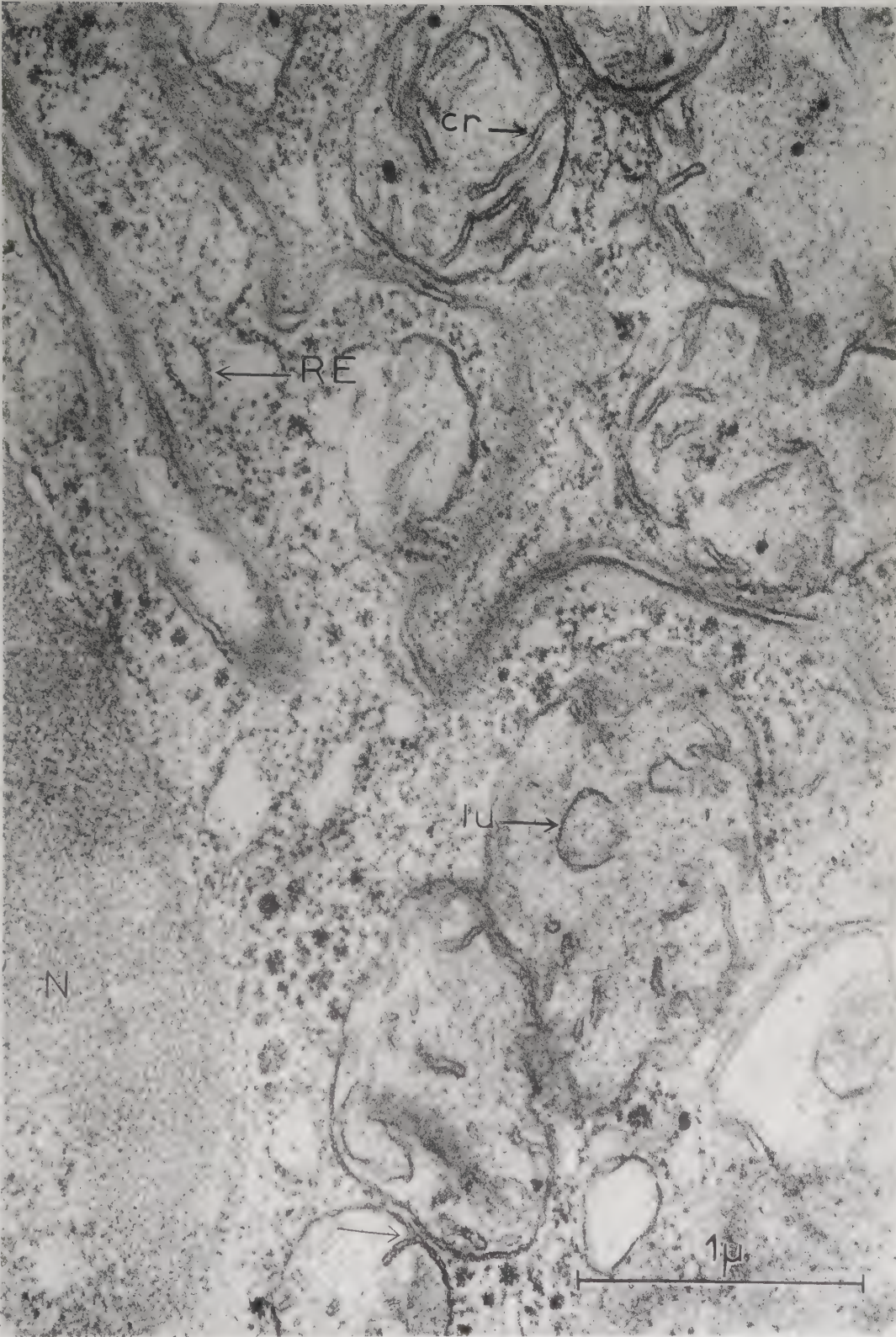
Cette cellule s'insinue entre les cellules chloragogènes. Son noyau homogène montre des pores nucléaires (*pn*). Le cytoplasme contraste avec celui des cellules voisines par l'abondance des ribosomes. Noter la présence de trois mitochondries montrant un début de cavulation et des granulations de glycogène. (× 22 800.)

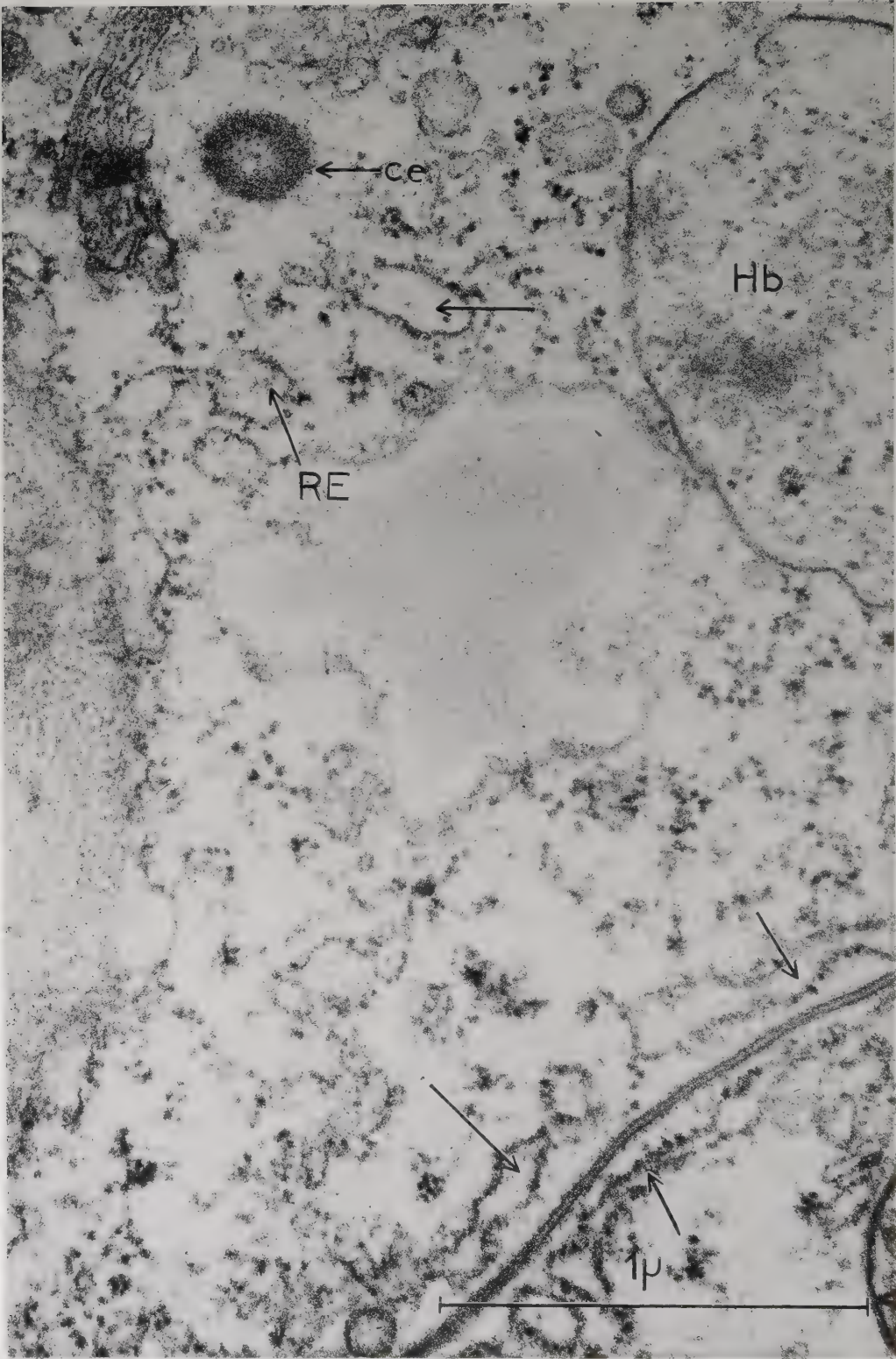


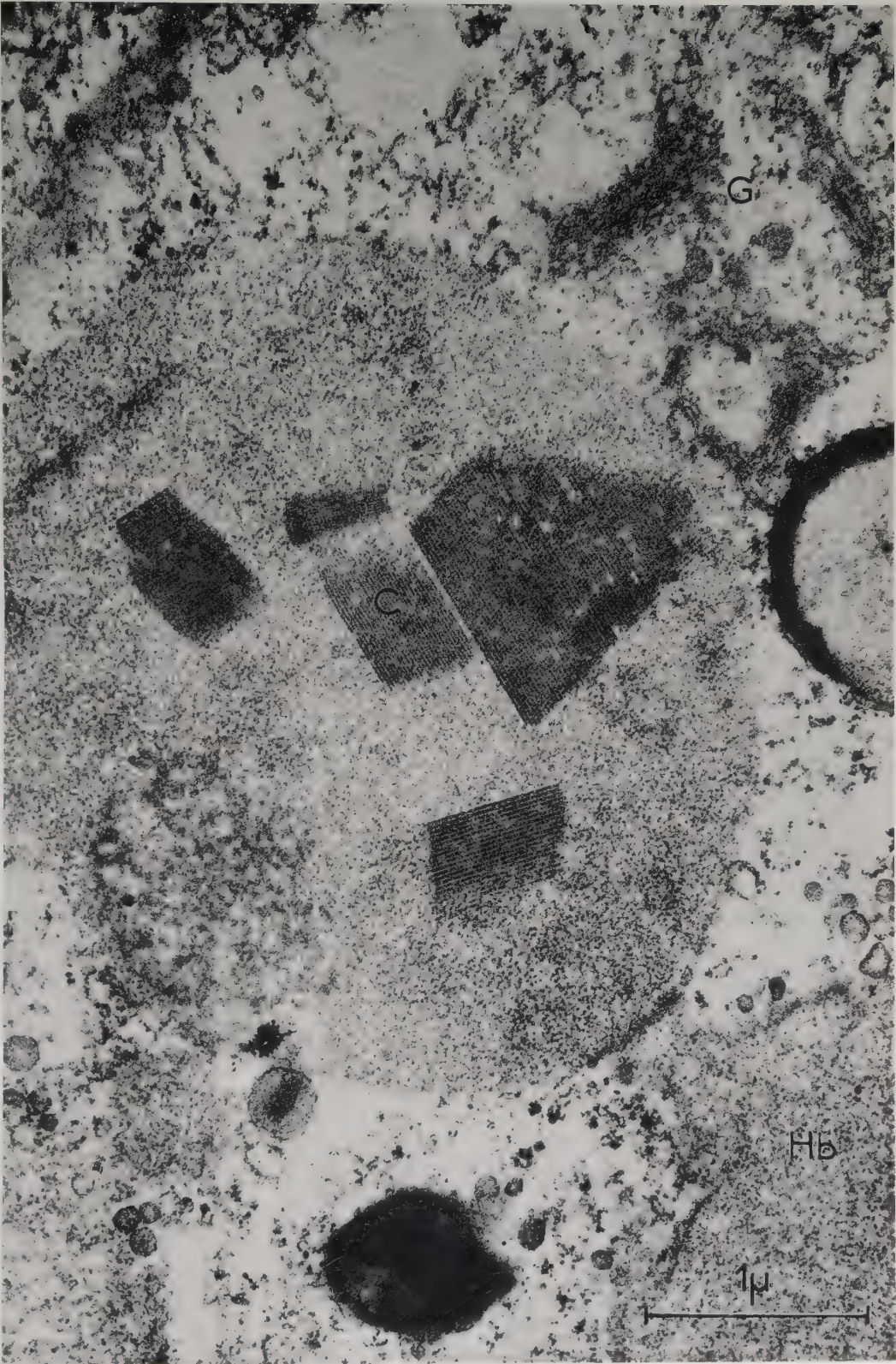


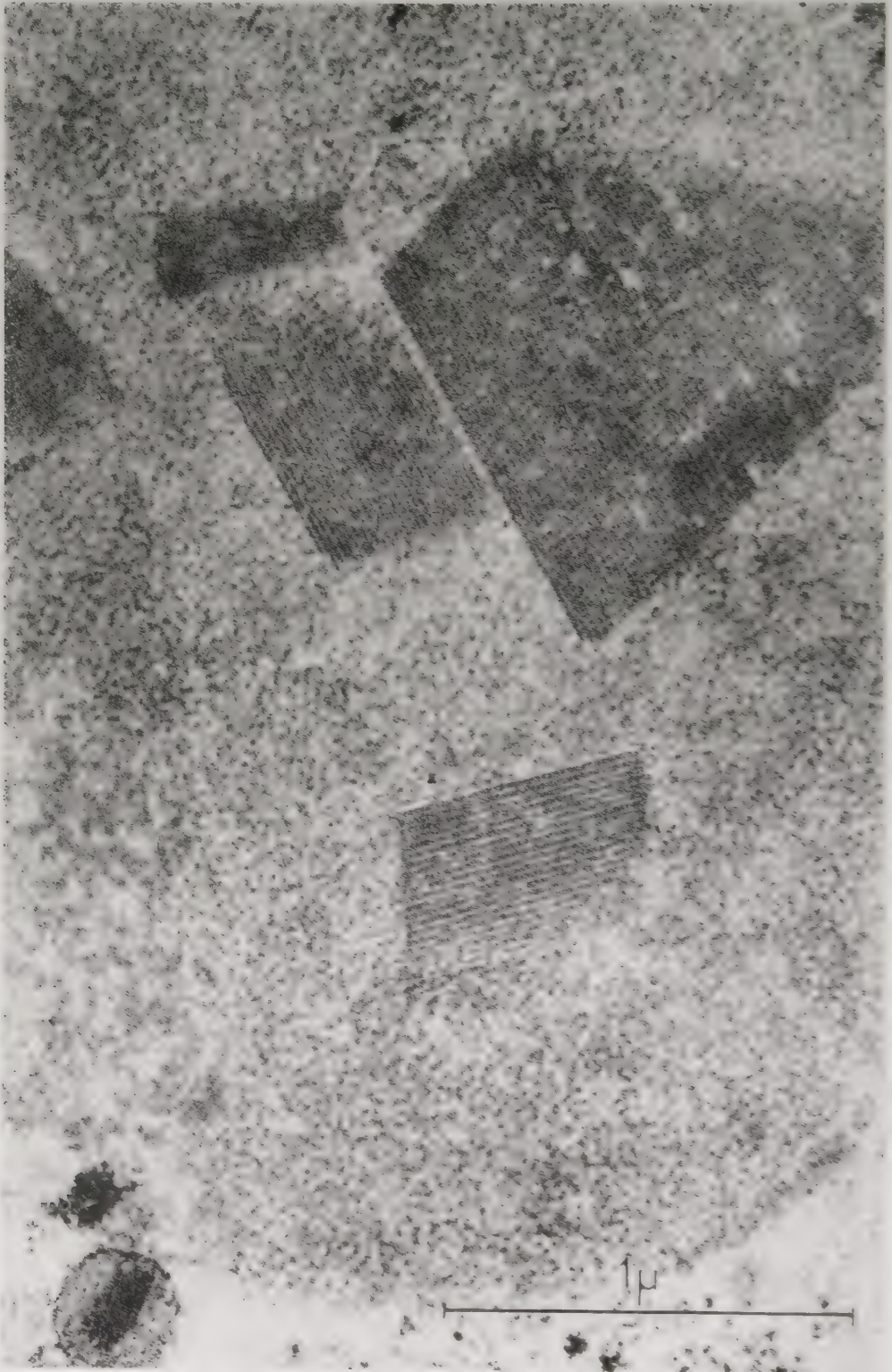


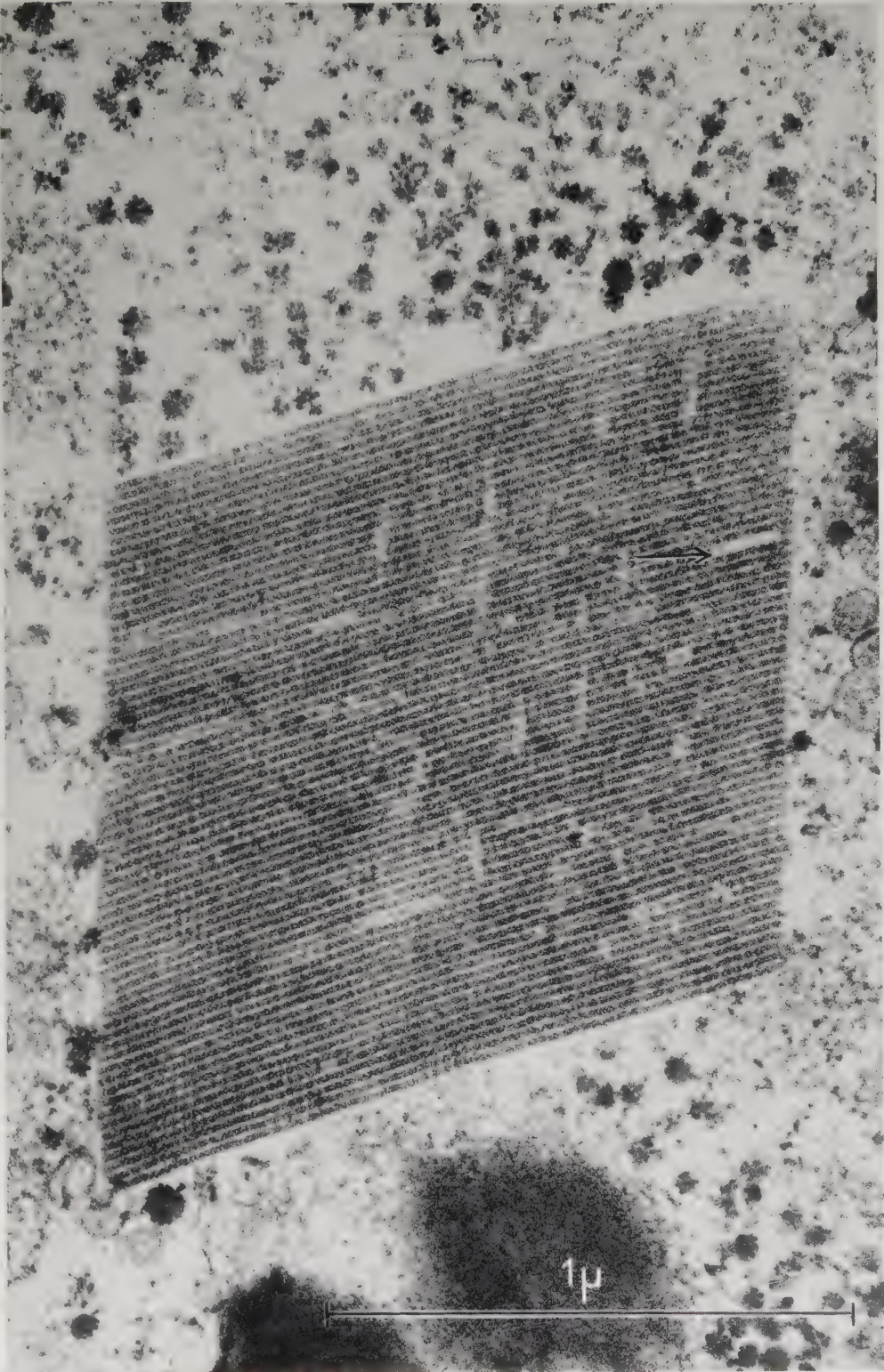


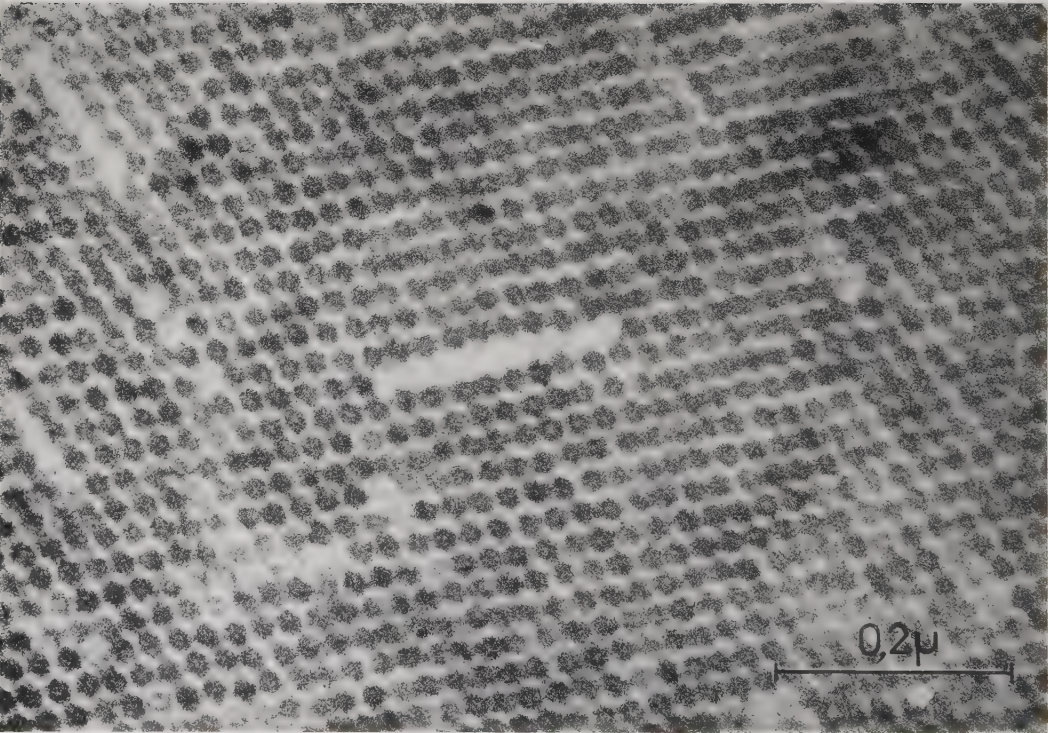
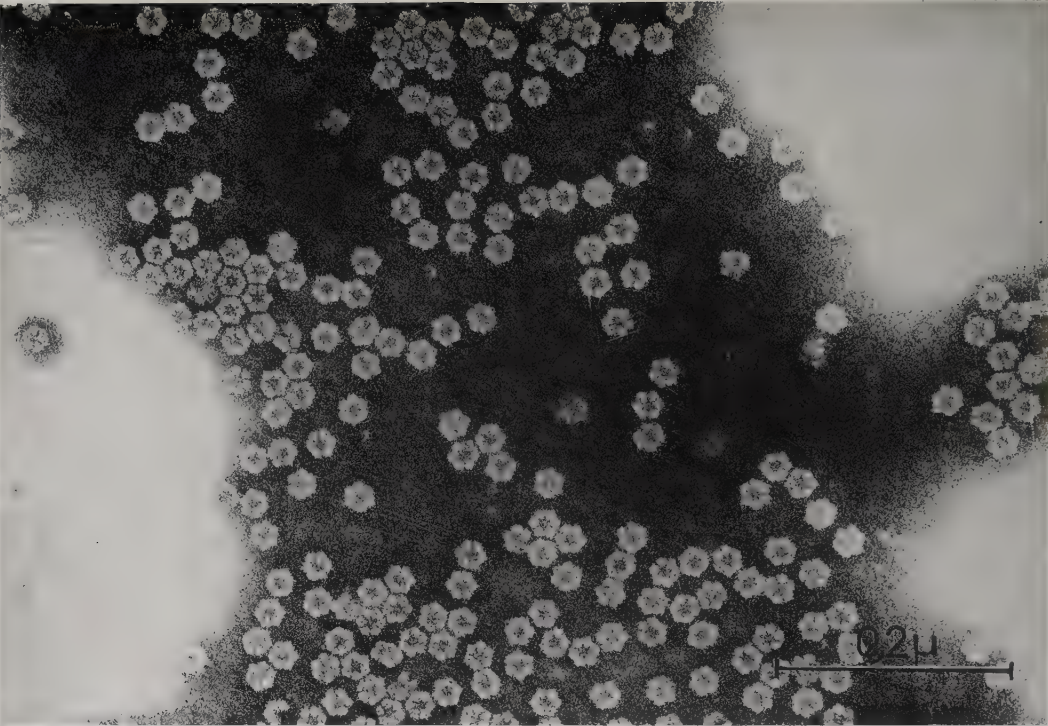


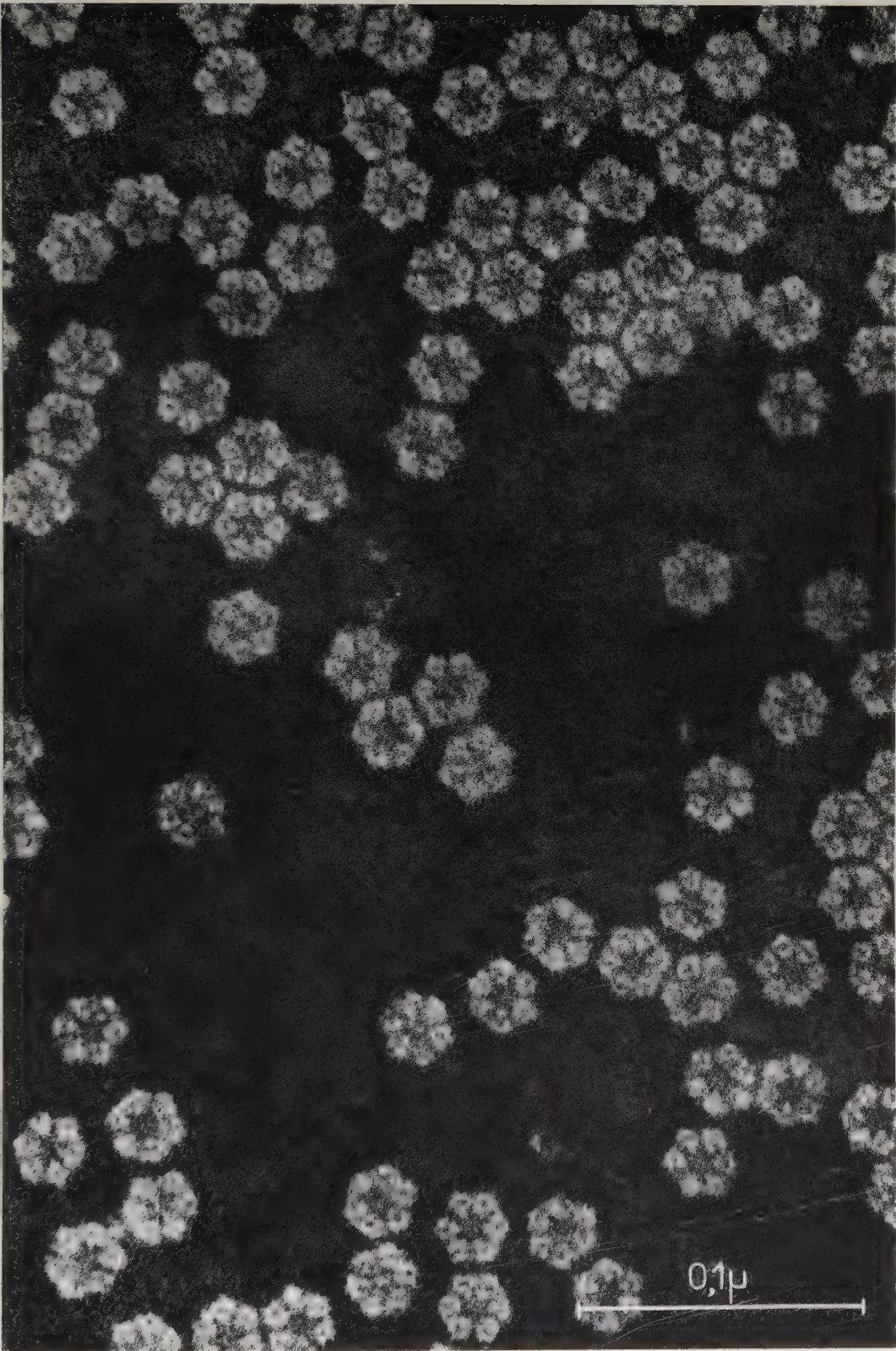


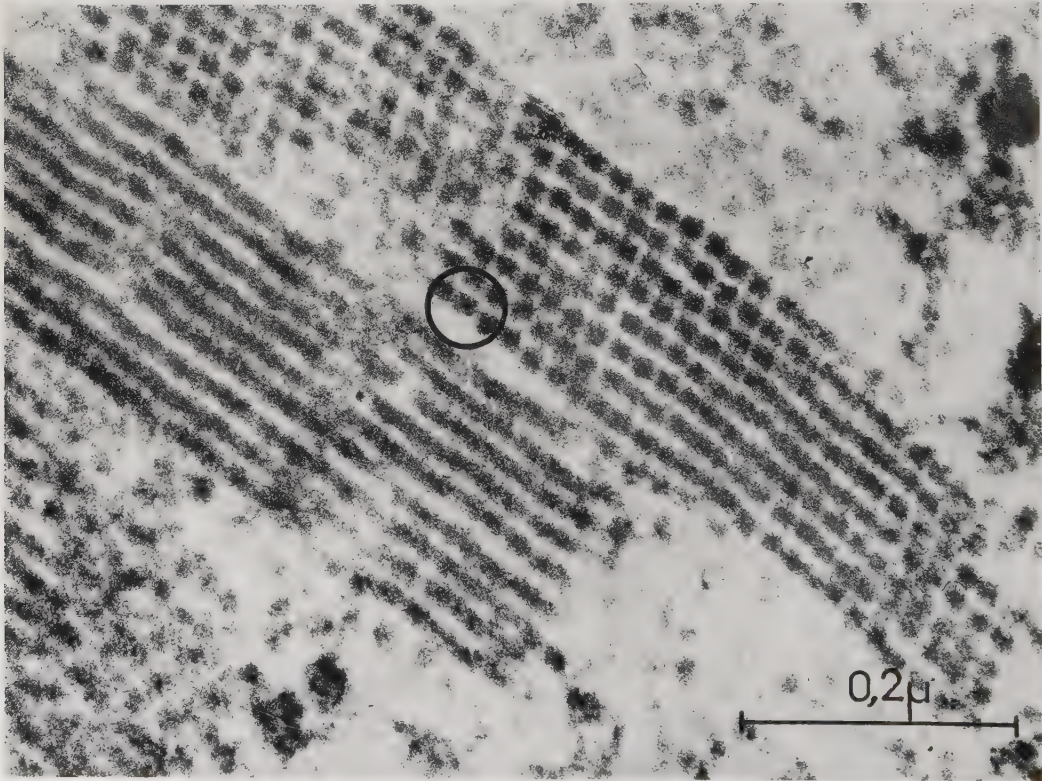
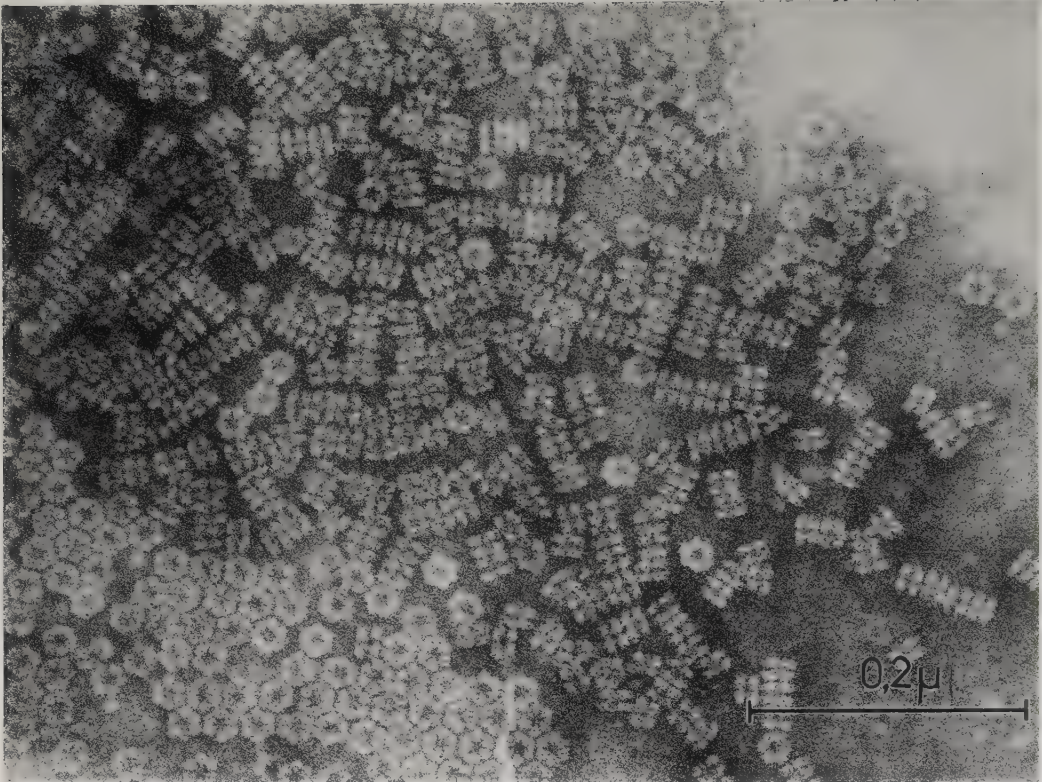


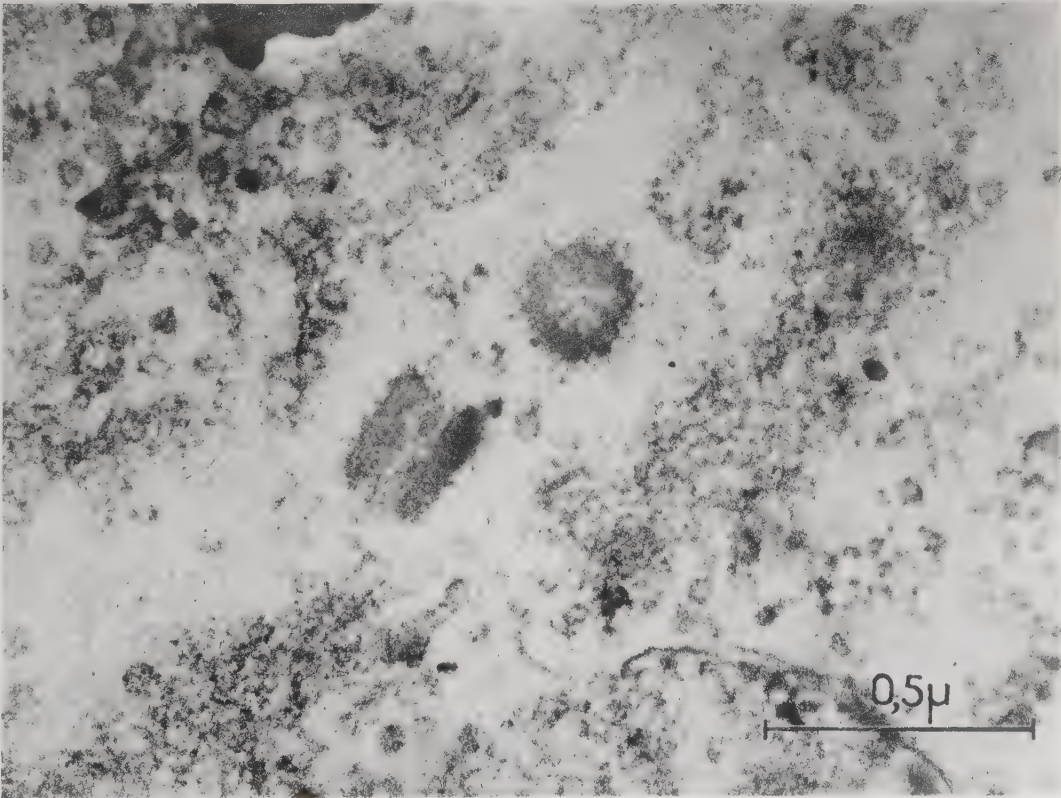
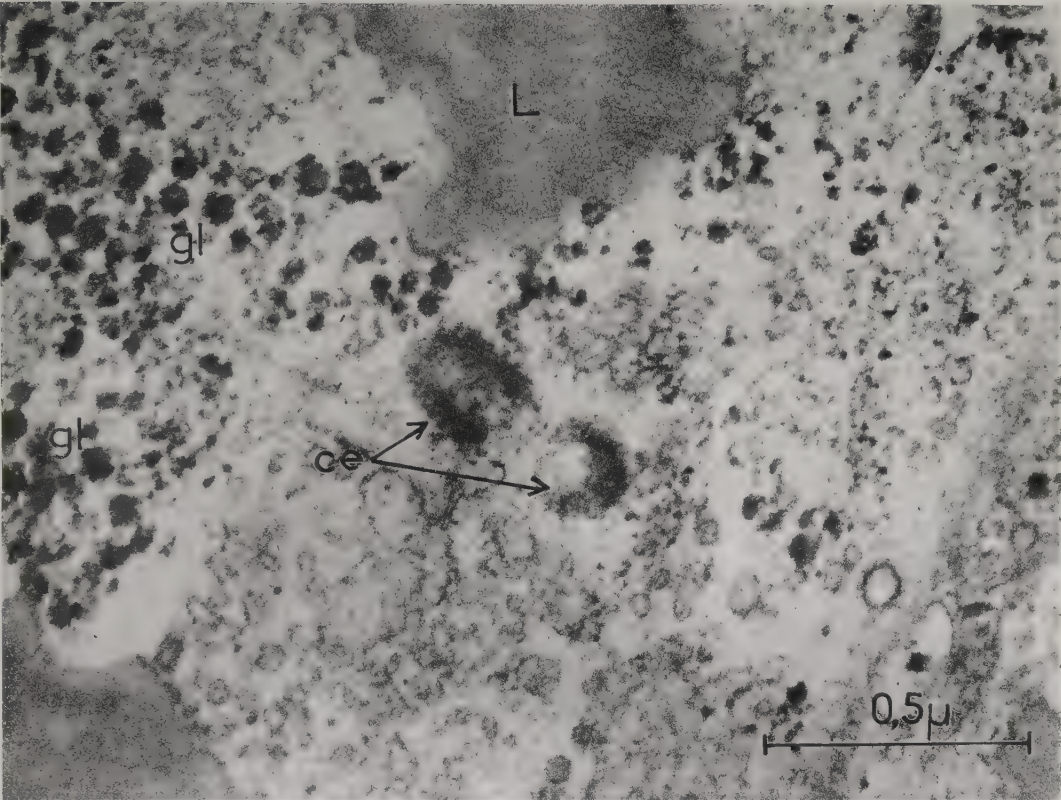


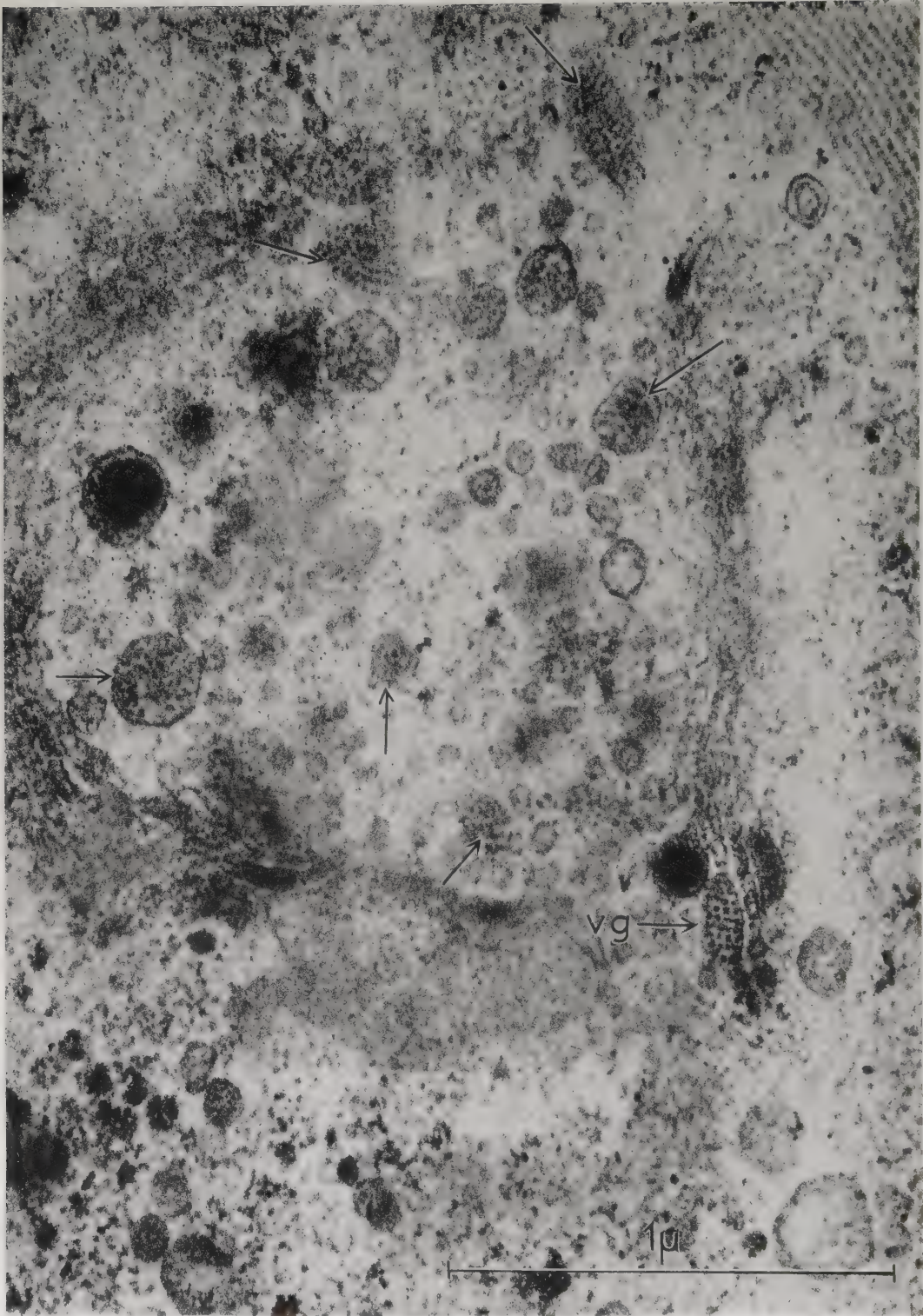


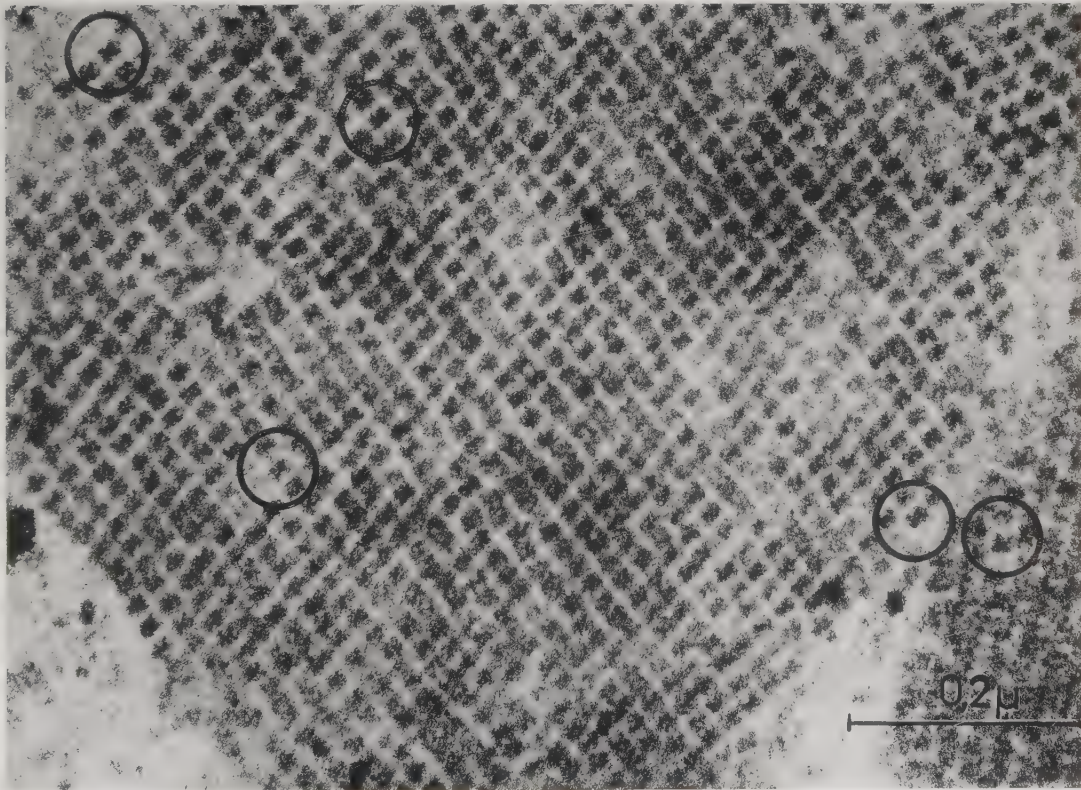
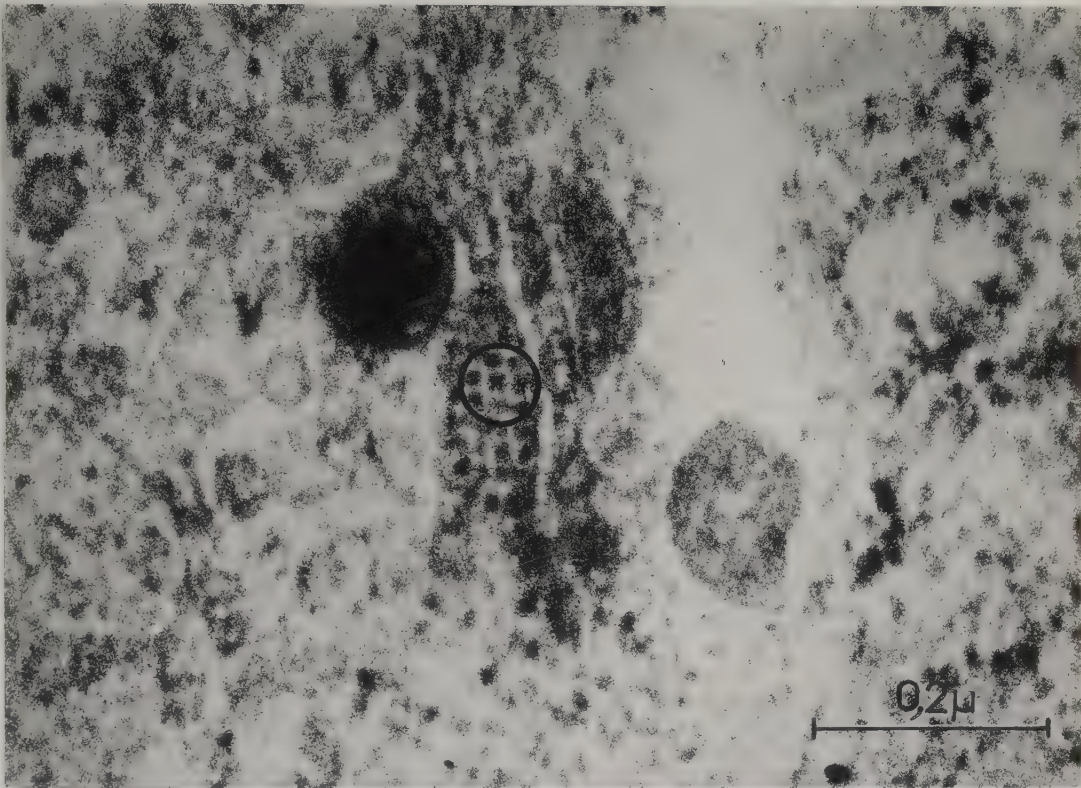


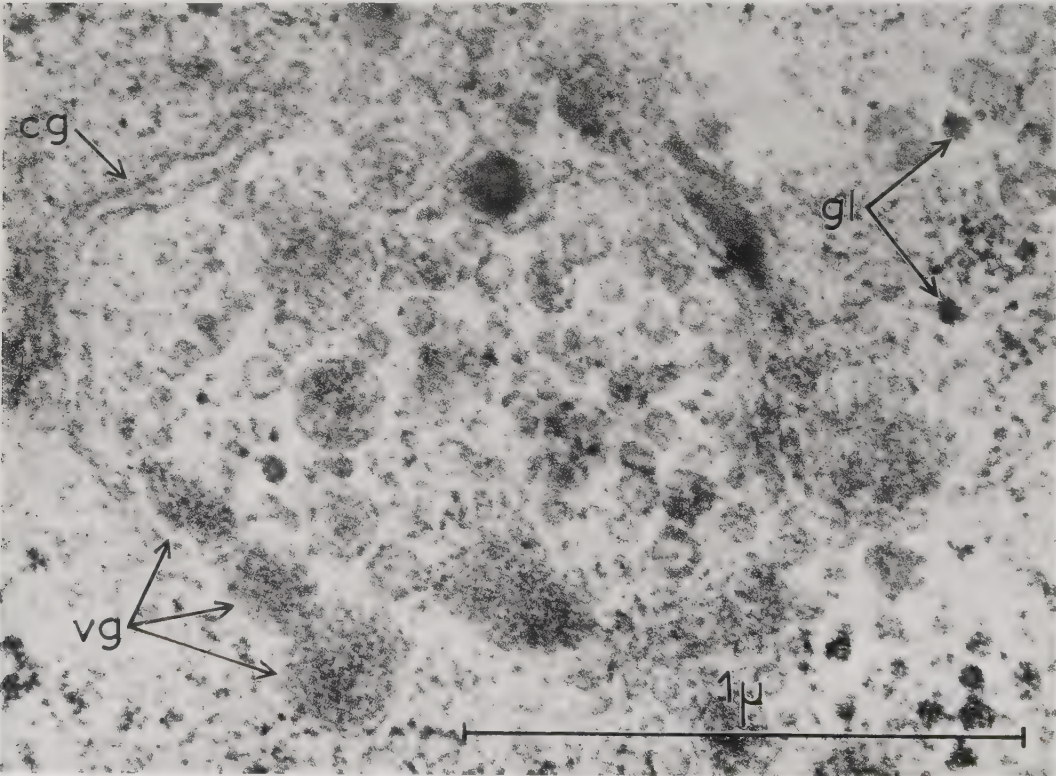
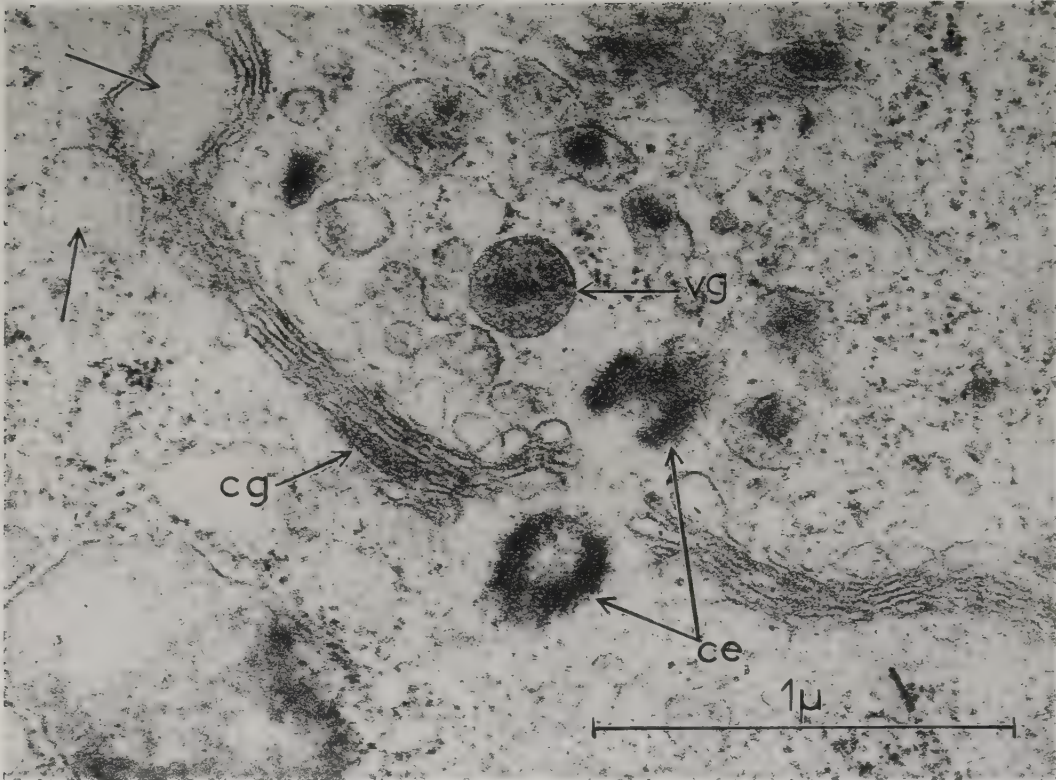


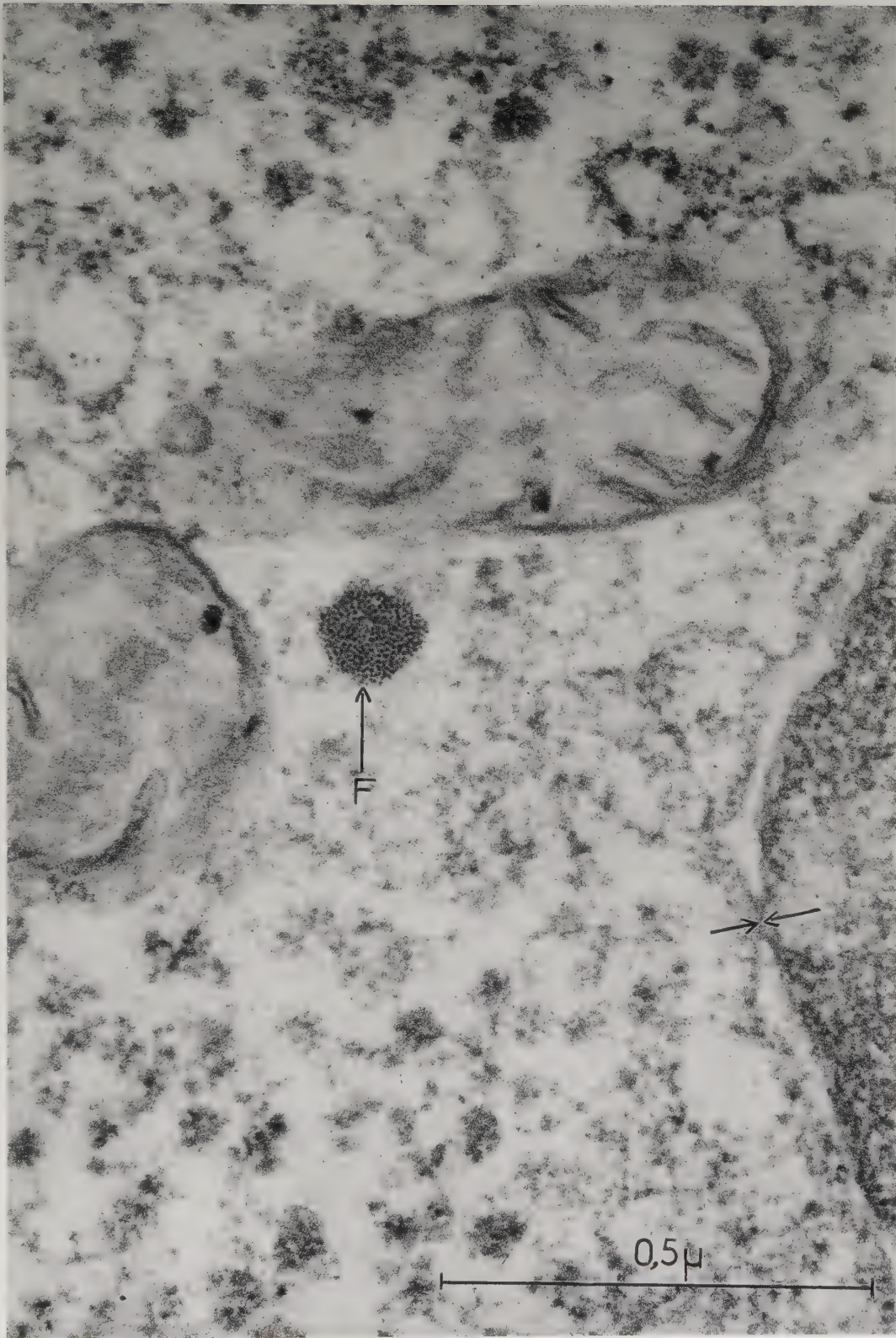


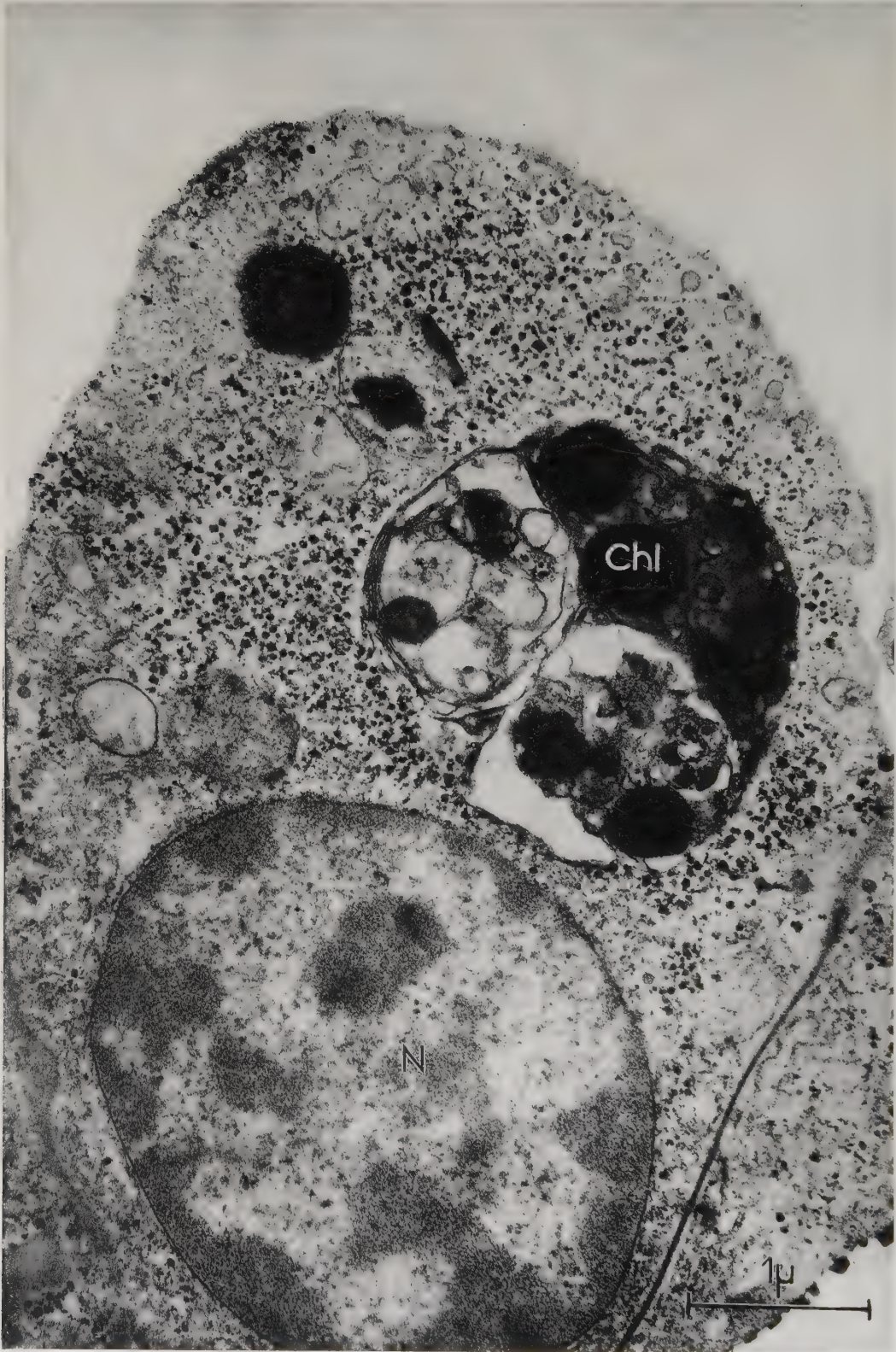


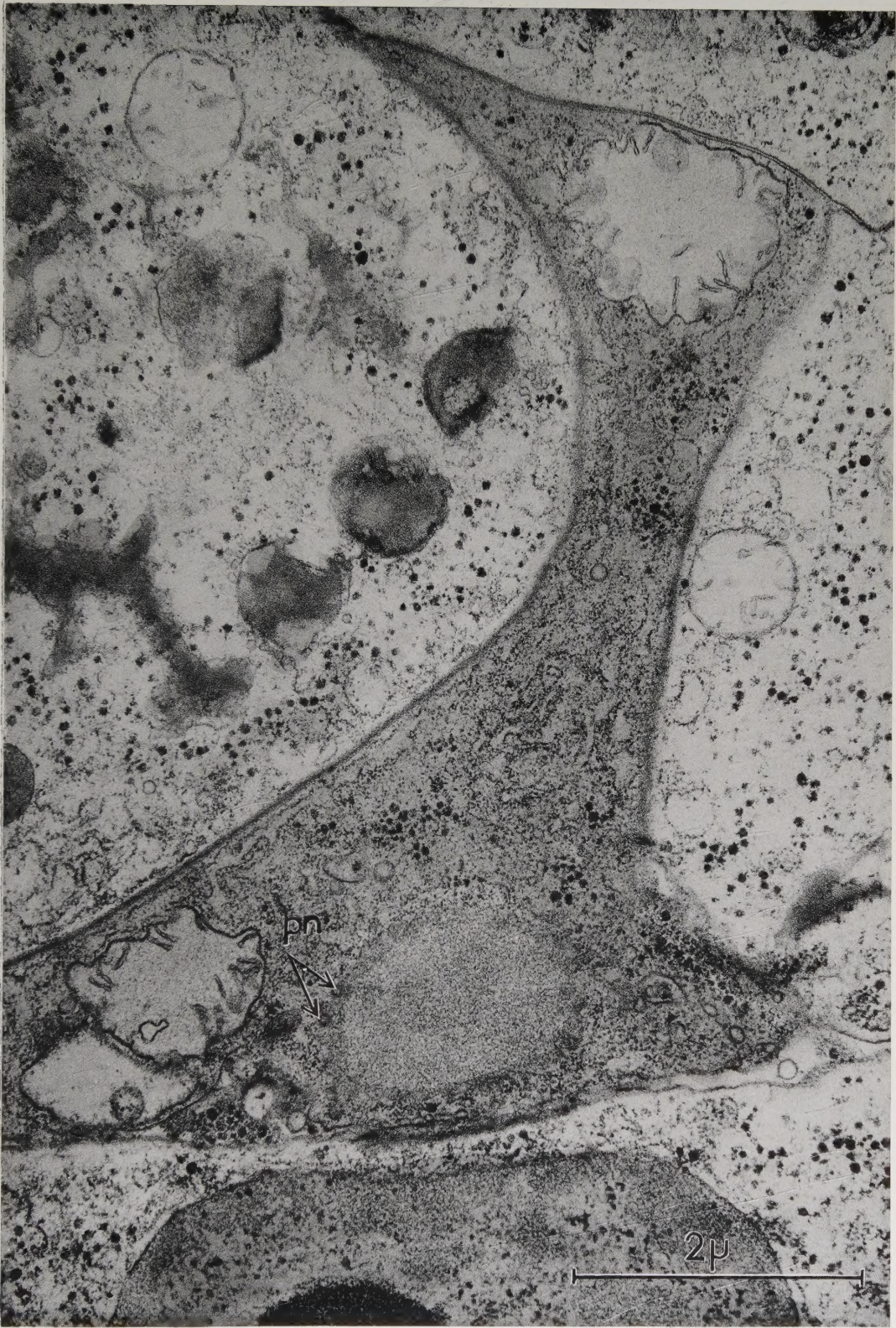












Soulisse et Cassegrain, Imp., Niort. Dépôt légal : 3^e trim. 1963. N^o d'ordre : 600.

Masson et C^{ie}, Edit., Paris. Dépôt légal : 3^e trim. 1963. N^o d'ordre : 4074.

(Printed in France.)